

Memoria libre do proxecto AC2021E-02

Manexo sustentable no viñado e calidade dos viños na DOP Ribeiro



Presentada por:

Pilar Blanco Camba
Flora Alonso Vega
Isaac Rodríguez Pereiro
Mar Vilanova de la Torre

Leiro, 31 de outubro de 2023

RESUMEN

O sector do viño en Galicia xoga un papel relevante tanto a nivel económico como social, xa que contribúe ao desenvolvemento do medio rural. Na Denominación de Orixe Protexida (DOP) do Ribeiro o viñedo supón unhas 2.500 ha na parte noroccidental da provincia de Ourense, repartidas nos vales formados polos ríos Miño, Avia e Arnoia. As características climatolóxicas condicionadas pola súa proximidade ao océano Atlántico, así como as peculiaridades orográficas e edafolóxicas desta zona conforman un *terroir* único e confírenlle a esta zona unha aptitude excelente para o cultivo da vide.

Na actualidade os viticultores tenden a empregar prácticas cada vez máis sustentables no viñedo, diminuindo o uso de produtos químicos de orixe sintética para reducir o seu impacto sobre o medio ambiente. Sen embargo, as condicións climáticas en Galicia favorecen a proliferación dos patóxenos da vide, polo tanto dificultan a implementación das técnicas ecolóxicas na viña. Aínda así, algúns produtores desta DO teñen apostado por este tipo de produción que restrinxe os usos de pesticidas e fertilizantes sintéticos en pro doutras alternativas naturais para o control de pragas. Desta forma, non só se reduce o impacto sobre o medio ambiente (solos, augas superficiais e freáticas, etc), senón que se contribúe a preservar a biodiversidade e camiñar cara a obtención de produtos máis saudables para o consumidor.

Dada a importancia do viño na DOP Ribeiro e a inquietude no sector respecto ó emprego de prácticas máis sustentables no viñedo, o obxectivo deste proxecto foi avaliar o impacto de distintas formas de manexo no viñedo sobre a calidade da uva e dos viños. Estudouse o efecto de distintos tipos de produción (ecolóxico, transición e convencional) sobre a fertilidade, presenza de residuos e diversidade microbiana no solo. Ademais, levouse a cabo a avaliación da calidade química, microbiolóxica e sanitaria dos viños nesta DOP.

ANTECEDENTES E XUSTIFICACIÓN

Na actualidade existe unha tendencia global cara o uso de prácticas agrícolas máis sustentables e respectuosas co medio natural. O viñedo non é alleo a esta tendencia e, de feito, España é o país con maior superficie de viñedo ecolóxico e o primeiro produtor de viños ecolóxicos do mundo (Boletín SeVi Extraordinario 16-11-20; Willer y Lernoud, 2020).

A vitivinicultura ecolóxica esixe que se respecten certas prácticas na viña e na adega, segundo o disposto na normativa europea (CE nº 834/2007, nº 889/2008, nº 203/2012, 2016/673). Na viña o uso de pesticidas e fertilizantes sintéticos están prohibidos. O 22 de maio de 2018, o Consello da Unión Europea aprobou o novo Regulamento (UE) 2018/848 relativo á produción ecolóxica e etiquetado dos produtos ecolóxicos que derroga o nº 834/2007 (vixente na actualidade), que entrou en vigor o 1 de xaneiro de 2021. As novas normativas abordan a necesidade do sector para manter unha produción ecolóxica verdadeiramente sostible. É dicir, que non só consista en substituír insumos convencionais por outros ecolóxicos, senón tamén considerando o solo como un organismo vivo, contribuíndo así á conservación da súa biodiversidade.

El control y la reducción de los residuos de pesticidas empleados en agricultura representa un reto desde el punto de vista agronómico, medioambiental y toxicológico, incluyendo la protección de los consumidores. La exposición humana a pesticidas a través del consumo de productos de origen vegetal viene controlada por el establecimiento de niveles máximos permitidos de residuos (MRLs) en este tipo de alimentos. Adicionalmente la Unión Europea, a través de la agencia de seguridad alimentaria (EFSA) realiza una revisión continua relativa a principios activos, y formulaciones comerciales, autorizados para su uso agrícola. Esta revisión implica entradas y salidas continuas de nuevos pesticidas y/o formulaciones en las listas de autorizaciones y prohibiciones.

La preocupación por la acumulación de residuos de estos compuestos en campos de cultivo ha llevado al establecimiento de campañas de muestreo y análisis de suelos agrícolas realizadas con carácter supranacional (ej. Land Use and Coverage Area, LUCAS, survey; [Overview - Land cover/use statistics - Eurostat \(europa.eu\)](#)), que evalúan diferentes parámetros relacionados con la fertilidad, biodiversidad y la presencia de residuos de fitosanitarios y otros elementos tóxicos en suelos agrícolas. En línea con estas regulaciones y estudios, la EU, dentro del denominado pacto verde, establece la necesidad de alcanzar una reducción del 50% en el uso de pesticidas agrícolas en el año 2020. Otras normativas más específicas afectan a determinados productos como es el caso de las sales de cobre. A pesar de considerarse como fungicidas autorizados, incluso en agricultura ecológica, debido a sus potenciales efectos medioambientales, se han fijados los límites máximos de aplicación de 28 Kg ha⁻¹ para un periodo de 7 años. Esto es, se restringe su aplicación a niveles máximos promedio de 4 Kg ha⁻¹ año⁻¹.

Las políticas comunitarias tienen un impacto directo sobre las normativas de los estados miembros, y sus comunidades autónomas, que ejercen un control creciente sobre la comercialización, y aplicación de productos fitosanitarios. Entre las acciones de control más recientes, figura la inmediata

implantación (prevista para inicio de 2024) del cuaderno de explotación digital, a través del cual la administración tiene acceso directo a las aplicaciones de fitosanitarios realizadas por agricultores.

El viñedo es uno de los cultivos que emplea la mayor cantidad de fitosanitarios por unidad de superficie. Aunque las sales de cobre y el azufre (considerados como compuestos de baja toxicidad) representan la principal contribución a este *ranking*, el uso de fungicidas de síntesis, seguidos en menor medida por insecticidas y herbicidas es también significativo. La actual legislación establece MRLs para cada uno de estos compuestos en uva de mesa y vinificación; sin embargo, el vino como producto elaborado, no se ve afectado directamente por estos valores máximos de residuos. A pesar de lo que podríamos denominar vacío legal, existen dos criterios que suelen tomarse a la hora de limitar los niveles de residuos en vinos. Uno de ellos, de carácter genérico, establece que los niveles de residuos en vino para un determinado fitosanitario no deben superar el 10% de su MRL en uva de vinificación. El segundo criterio toma como referencia los MRLs en uva y los factores de transferencia (en inglés *processing factors*, PFs; [Database of processing techniques and processing factors compatible with the EFSA food classification and description system FoodEx 2 Objective 3: European database of processing factors for pesticides in food | EFSA \(europa.eu\)](#)) medios de cada compuesto en el proceso de vinificación. Así pues, si un fungicida tiene un PF del 50% su nivel máximo permitido en vino es el 50% del MRL fijado en uva. La dificultad para calcular los PFs, y la falta de normativa hace que los criterios anteriores carezcan de valor legal, y por tanto sean considerados como recomendaciones. Por tanto, la única traba a la comercialización de un vino podría darse en exportaciones a terceros países, en el caso de que contenga residuos de algún fitosanitario no autorizado en el país que realiza la importación.

Además de las consideraciones sanitarias, el empleo de fitosanitarios en viticultura es susceptible de tener un impacto directo sobre el suelo y el medio acuático. La persistencia o introducción continua de ciertos compuestos en los viñedos podría provocar alteraciones en la metagenómica del suelo, afectando a su fertilidad. La localización habitual de los viñedos en los alrededores de masas de agua (riberas), podría provocar la contaminación de aguas subterráneas y/o superficiales debido a migración y/o arrastre por escorrentías en periodos de lluvias intensas.

Na DOP Ribeiro a superficie de viñedo abarca unhas 2.500 ha das que 1374 ha están inscritas no Consello Regulador, incluíndo 1650 viticultores e 109 adegas e colleiteiros no 2019 (CR Ribeiro, 2019). Nesta DOP elabórase fundamentalmente viño branco (90%) sendo Treixadura a variedade de uva maioritaria; aínda que tamén se elaboran viños tintos (9%) e o tostado, un viño doce tradicional (1%). A nivel climático a DOP Ribeiro situase nunha zona de transición de carácter mediterráneo suavizado pola influencia do océano Atlántico situado a uns 45 km, aínda que a orografía marcada pola cadeas montañosas polo norte e oeste teñen un efecto protector no relativo ás precipitacións. O clima caracterízase por unha pluviometría media de 950 mm anuais, unha temperatura media de 14,5 °C, e unha importante diferenza térmica entre o día e a noite que da lugar a unha maduración lenta da uva.

La DOP Ribeiro presenta un nivel intermedio de presión de enfermedades de tipo fúngico entre las DO más occidentales y orientales del Noroeste de España. Así, con carácter general, la presión ejercida por el mildium es menor que la existente en las zonas de costa; sin embargo, los elevados

contrastes térmicos entre las horas centrales del día y la madrugada la hacen muy susceptible a problemas provocados por el oídio. El estrés hídrico existente en los meses centrales del estío (los valles del Avia, Miño y Arnoia alcanzan temperaturas entre 35 °C y 40 °C con relativa frecuencia durante el estío) hace que el control de vegetación sea un aspecto importante en el manejo del viñedo. En las explotaciones más antiguas, la mecanización es compleja debido al ancho limitado de las calles, por lo que el uso de herbicidas no es ajeno a la zona. Desde un punto de vista ambiental, la posible migración de una fracción de los fitosanitarios a aguas superficiales podría tener un impacto supranacional, afectando de forma directa, o indirecta, a la cuenca media y baja del Miño.

Os solos do Ribeiro son de tres tipos: a maioría proceden de materiais graníticos con texturas franco-areosas; pero tamén os hai derivados de materiais metamórficos coma xistos ou formados a partir de material sedimentario con texturas francas. Normalmente se trata de solos ácidos, pobres en materia orgánica e cun baixo contido en calcio (Fernández-Calviño et al., 2009). Todos estes factores, asociados á microbiota do solo e da uva, constitúen un *terroir* único que xoga un papel relevante sobre a calidade dos viños do Ribeiro.

O *terroir* defínese como un ecosistema interactivo que engloba clima, solo, microorganismos asociados ao viñedo, variedades de vide, así como as prácticas agronómicas e enolóxicas (Belda et al., 2017). Destes compoñentes do *terroir* o papel dos microorganismos do viñedo era quizais o menos estudado ata fai ben pouco. As novas técnicas de secuenciación masiva demostran que os microorganismos asociados ao viñedo determinan a produtividade e resistencia a enfermidades da planta, a evolución das fermentacións e a calidade do viño (Bokulich et al., 2016). Tamén se estudou a influencia do pH e dos niveis de Cu na estrutura das comunidades microbianas de solos de viñedo (Fernández-Calviño et al., 2010a, 2010b, 2012).

Tendo en conta estes antecedentes, con este proxecto que reúne a experiencia de distintos grupos de investigación e a participación directa de produtores e adegas, estúdiouse polo miúdo as consecuencias da produción sustentable no viñedo avaliando a súa influencia sobre a fertilidade do solo, a presenza de residuos e o microbioma asociado en diferentes viñedos da DOP Ribeiro.

Ademais, levouse a cabo unha avaliación da calidade química, microbiolóxica e sanitaria dos viños nesta DOP.

OBXECTIVOS

O obxectivo global deste proxecto foi avaliar as prácticas de **producción sustentable** no viñedo e na adega e a súa influencia sobre a **calidade dos viños**. Para iso propuxéronse os seguintes obxectivos específicos:

- 1) Ver a influencia das prácticas aplicadas no viñedo (cultivo ecolóxico, biodinámico, produción integrada e/ou convencional) nas características fisicoquímicas do solo, presenza de residuos, e microbioma asociado.
- 2) Avaliar o impacto das prácticas aplicadas no viñedo sobre o rendemento e calidade da uva, as características do mosto e a presenza de microorganismos beneficiosos para a fermentación.
- 3) Caracterizar, a nivel químico e sensorial, viños da DOP Ribeiro obtidos mediante diferentes prácticas de manexo.
- 4) Coñecer a calidade microbiolóxica dos viños: presenza/ausencia de microorganismos alterantes e a súa relación co perfil químico e/ou sensorial.
- 5) Controlar a calidade sanitaria dos viños obtidos: residuos e aminos bióxenos.
- 6) Ofrecer ao sector datos obxectivos sobre o impacto da produción sustentable na viña e no viño.
- 7) Valorizar os viños galegos, en particular os da DOP Ribeiro, e difundir os resultados do proxecto.

A continuación preséntase a metodoloxía e os resultados obtidos para cada obxectivo

Os Anexos de datos están dispoñibles na Agacal-Evega para a súa consulta.

METODOLOXÍA

Selección de fincas e condicións da toma de mostras de solo

Para a selección de viñedos contactouse cos distintos colaboradores do proxecto e outros viticultores do Ribeiro co obxectivo de reunir un número similar de viñedos con distintos manexos. Finalmente, despois dunha mostraxe preliminar en novembro do 2021, nas seguintes campañas recolléronse mostras de solo para análise en 15 fincas: 5 de manexo ecolóxico, 4 en transición e 6 en manexo convencional (Referencia das mostras S1 a S15)

A localización das fincas pode verse na Figura 1.

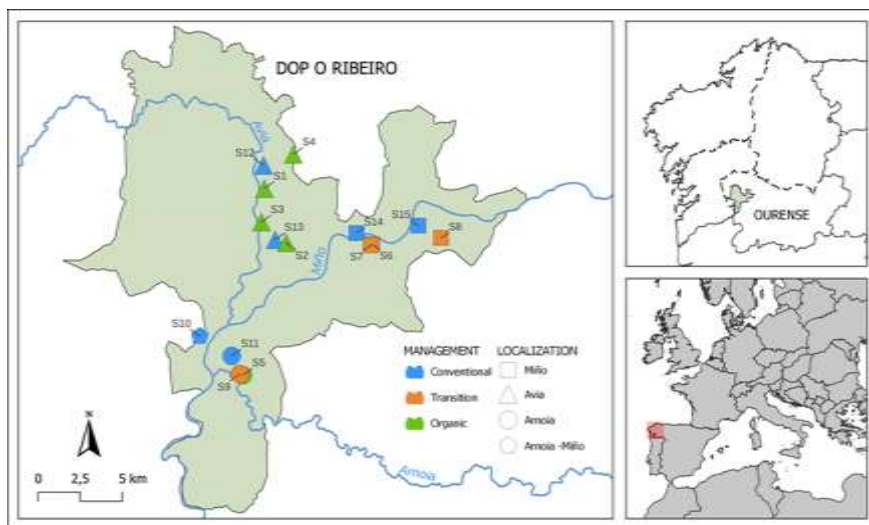


Figura 1. Localización das fincas onde se colleron as mostras de solo

A recollida de mostras levouse a cabo durante o mes de xullo do ano 2022 (Foto 1) e no mes de febreiro de 2023 (Foto 2). En cada parcela traballouse con mostras compostas, incluíndo 10 incrementos por mostra, respectando os mesmos puntos de mostraxe en ambas campañas. Colleuse unha mostra da capa superficial: 0-5 cm e outra de 5-20 cm. (segundo a liña de cepas e a aproximadamente 20-30 cm da planta). Tras a eliminación de material superficial (herbas, follas,...) recolleuse mostra da profundidade do solo correspondente a 0-5cm e da correspondente a 5-20cm. Unha vez recollidas todas as mostras de cada finca, as correspondentes á mesma profundidade mesturáronse e homoxeneizáronse. Unha parte foi inmediatamente transferida a unha neveira para análise de microbioma (Evega) e a mostra restante foi trasladada parte ás instalacións da Universidade de Vigo

A metodoloxía de cada tipo de análise especifícase en cada apartado de resultados



Foto 1. Toma de mostras de solo en Xullo 2022



Foto 2. Toma de mostras de solo en Febreiro 2023

RESULTADOS

Análise fisicoquímica dos solos

Unha vez nos laboratorios da UVigo, as mostras foron secadas ó aire e posteriormente peneiradas para separar a fracción inferior a 2mm. Unha parte da mostra peneirada enviouse ó equipo da USC para as determinacións de residuos correspondentes a este grupo de traballo. Parte da mostra foi triturada e moída para unha maior homoxeneización da mesma, procedemento que é necesario para certas determinacións fisicoquímicas dos solos.

No referente á caracterización físico-química realizáronse as seguintes determinacións:

- pH en auga e en cloruro potásico
- Contido total de carbono e nitróxeno e cálculo da correspondente relación C/N
- Concentración de fósforo Bray
- Capacidade de intercambio catiónico efectiva tras a determinación dos niveis dos catións intercambiáveis maioritarios mediante diferentes procedementos para os básicos: calcio, magnesio, potasio e soido, e os acídicos, aluminio.
- Suma de bases, o grao de saturación en bases e a relación Ca/Mg
- Concentracións totais de micronutrientes que son considerados elementos maioritarios nos solos (Fe e Mn) e de micronutrientes comunmente atopados en niveis traza nos solos (Cu e Zn).
- Micronutrientes dispoñibles tras ser extraídos co procedemento EDTA. No caso dos micronutrientes Cu e Zn realizouse un fraccionamento do contido total para avaliar o reparto de dita concentración nas diferentes fraccións do solo mediante diferentes extraccións realizadas con disolucións de acetato amónico, pirofosfato sódico, oxalato amónico e ácido oxálico e este mesmo ácido e oxalato ascórbico amónico.
- Distribución de Fe e Al tras a súa extracción con hidróxido sódico e sodio ditionito, oxalato amónico e ácido oxálico, e pirofosfato sódico.

Os datos xerados tras os diferentes procedementos empregados foron revisados e tratados mediante diferentes ferramentas estatísticas: estatística descritiva e análises paramétricos e non paramétricos de comparación de medias: realizáronse probas ANOVA, t student, Kruskal-Wallis e Mann-Whitney para comparar os resultados obtidos entre diferentes épocas de mostraxe, entre as dúas profundidades analizadas e entre os diferentes manexos ós que se somete cada mostra.

Ademais das mostraxes, o equipo de traballo reuniuse en varias ocasións para compartir resultados e comparar datos. Traballouse conxuntamente nunha publicación e en diferentes comunicacións presentadas en varios congresos e xornadas co obxectivo de dar difusión os resultados obtidos.

No Anexo I poden consultarse os resultados da caracterización físico-química dos solos

Tras as dúas campañas de mostraxe (xullo 2022 e febreiro 2023), as mostras representativas dos diferentes viñedos recollidas a diferentes profundidades (0-5 cm e 5-20cm) foron acondicionadas para posteriores análises de acordo coas necesidades de cada procedemento.

Os resultados mais destacables no referido ás propiedades fisicoquímicas do solos amósanse a continuación.

En relación co pH, tanto o medido en auga como en KCl (Figura 2) das mostras, non se atoparon diferencias significativas entre as procedentes das dúas profundidades analizadas, pero en cada unha delas, si se obtiveron diferencias entre os diferentes manexos analizados, e os maiores valores corresponden ós solos procedentes de fincas baixo manexo en ecolóxico. Ademais obtívose un incremento nos valores medios que vai dende as mostras procedentes de solos baixo manexo en convencional, pasando polas de transición ata finalmente chegar a ese máximo indicado para os solos procedentes de fincas en ecolóxico. En todos os casos os valores medios están dentro do rango óptimo para o desenvolvemento da vide, pero son nos ecolóxicos nos que se atopan os valores mais satisfactorios. Só no caso de fincas baixo manexo convencional se atoparon valores de pH en cloruro potásico por debaixo do valor de 4,8, crítico de acidez e indicativo de necesidade de encalar.

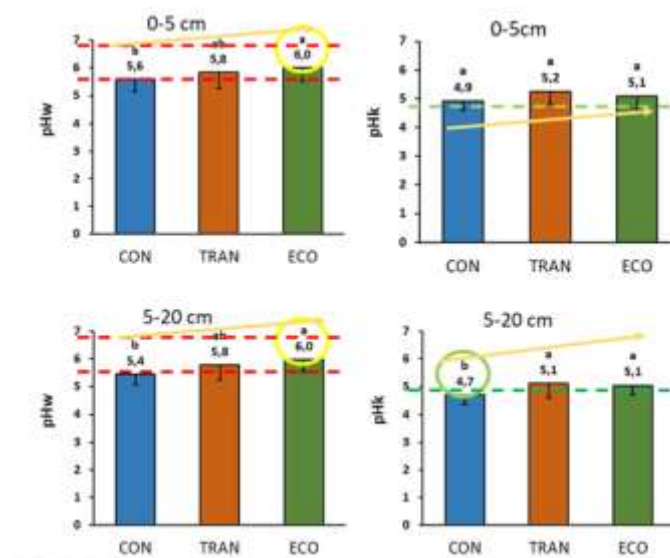


Figura 2. pH en auga (pHw) e en cloruro potásico (pHk) segundo profundidade e manexo dos solos avaliados

A materia orgánica dos solos, avaliada a través dos contidos totais de C e N dos solos (Figura 3) é unha fonte importantísima de nutrientes. Neste caso, si se atoparon diferencias significativas entre os valores determinados en mostras superficiais fronte ás subsuperficiais, propio e indicativo da procedencia da mesma.

Os valores de concentración de C e N son moi variables, especialmente os respectivos ás mostras de solos traballados en transición, e tamén, aínda que en menor medida, os de convencional. A menor variabilidade entre mostras atopouse nos solos baixo manexo ecolóxico, probablemente debido a unha maior homoxeneidade entre os tratamentos aplicados en cada finca e tamén ó menor tamaño, en xeral, das mesmas.

En calquera dos casos, os contidos medios de materia orgánica e de N son indicativos dunha moderada concentración e están no rango óptimo para a viticultura.

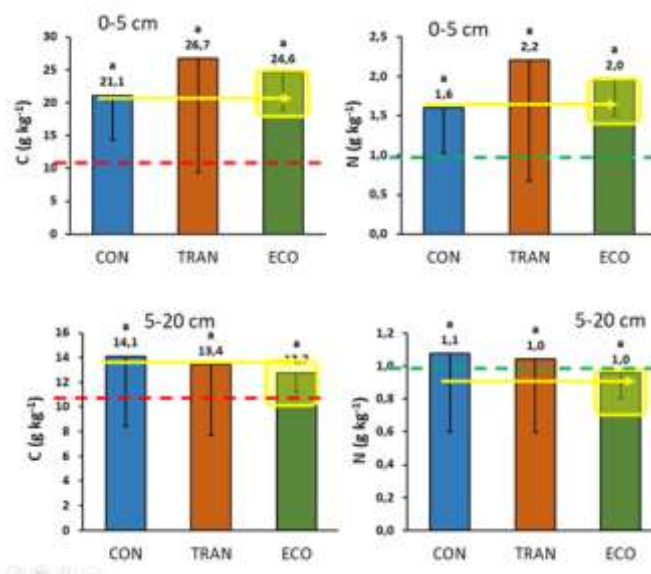


Figura 3. Contidos totais de C e N segundo a profundidade e o manexo dos solos avaliados

Tras a determinación dos catións do complexo de intercambio dos solos avaliados, observouse que os valores medios de Na intercambiable (Na_{ex}) non difiren nin entre as profundidades nin entre os tipos de manexo avaliados (Figura 4) e son sempre os menores dos catións básicos avaliados. Os de K_{ex} , Ca_{ex} e Mg_{ex} , seguen sempre a orde de concentración $Ca > Mg > K$ en calquera dos manexos e profundidades estudados e as concentracións na capa superficial (0-5cm) son maiores ca das subsuperficiais (5-20cm).

Comparando os resultados obtidos en función do tipo de manexo empregado no viñado, detectouse unha maior concentración de Ca_{ex} e Mg_{ex} así como da suma das bases do complexo de intercambio nas capas máis superficiais dos solos baixo manexo en ecolóxico que nas correspondentes do manexo convencional; ó mesmo tempo que os valores obtidos en manexo en transición presentan, en xeral, unha maior variabilidade. Do mesmo xeito, a capa subsuperficial, a que corresponde a 5-20cm de profundidade, dos solos baixo manexo en ecolóxico, presenta as maiores concentracións de K_{ex} e Mg_{ex} .

En todos os casos a saturación de bases do complexo de intercambio catiónico é superior ó 80% e os valores medios de concentración de Ca, Mg e K están por encima do límite crítico establecido para cada un deles.

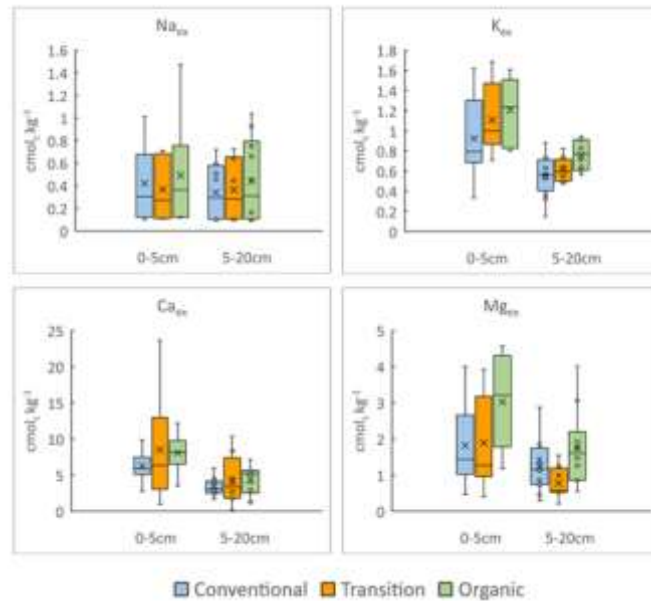


Figura 4. Contidos de Na, K, Ca e Mg intercambiáveis segundo a profundidade e o manexo dos solos avaliados.

Determináronse os contidos totais de diferentes micronutrientes (Fe, Mn, Cu e Zn) así como os niveles extraídos con EDTA, operacionalmente atribuíbles ós contidos dispoñibles (Figura 5 e 6).

O ferro e o manganeso son elementos maioritarios nos solos aínda que as plantas os precisen en baixas concentracións para o seu correcto desenvolvemento metabólico. As concentracións totais de ferro (Fe_T) non amosaron diferenzas nin entre os manexos nin as profundidades avaliadas, e as concentracións medias son moi similares en calquera dos casos, polo que a orixe do mesmo nos solos avaliados atribúese maioritariamente á meteorización do material de partida.

Con respecto ós contidos totais de Mn (Mn_T), este non amosou diferenzas significativas entre tratamentos na capa máis superficial, aínda que os contidos medios son sensiblemente maiores nesta profundidade dos solos baixo sistema de manexo en ecolóxico. Esta maior concentración é tamén notable e, neste caso estatisticamente significativa, na capa subsuperficial destes mesmos solos, feitos que suxiren que ademais da procedencia do material de partida, pode haber aportes deste micronutriente durante o manexo en ecolóxico, aínda que hai que destacar que os valores que se alcanzan están moi por debaixo daqueles indicados como límite para o desenvolvemento de toxicidade.

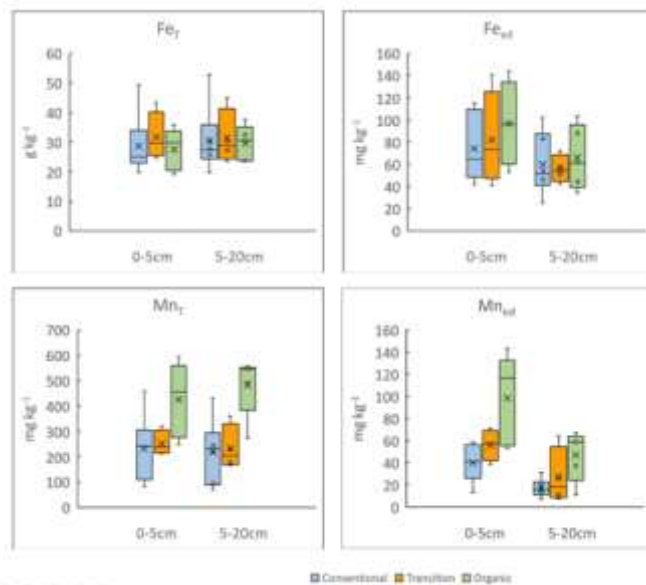


Figura 5. Contidos totais (T) e dispoñibles (ed) de Fe e Mn segundo a profundidade e o manexo dos solos avaliados

As tendencias observadas unha vez se determinaron as concentracións dispoñibles destes dous micronutrientes (Fe e Mn) son moi similares ás que xa se indicaron respecto dos contidos totais. Os valores medios son similares entre as diferentes profundidades e os sistemas de manexo, mentres que os de Mn_{ed} son maiores na profundidade 0-5cm que na 5-20cm. Tamén son maiores nos solos baixo sistema de manexo en ecolóxico que nos de convencional. Os que se atopan en transición cara un manexo en ecolóxico presentan valores intermedios que suxiren ese proceso de cambio.

Os outros dous micronutrientes avaliados, o cobre e o cinc, son elementos considerados como elementos traza nos solos por atoparse en baixas concentracións. As concentracións de Cu_T, sen embargo, son elevadas respecto dos niveis de fondo que cabería esperar en solos naturais da zona, aínda que non se estableceron diferencias entre os valores atopados nas diferentes profundidades avaliadas e os atopados entre os diferentes tipos de manexo do cultivo. A frecuente aplicación dende hai décadas de fungicidas de base cúprica nos viñedos explica os normalmente altos contidos de Cu atopados en solos de viñado de moitas partes do mundo, incluídos os da DO O Ribeiro.

Con respecto ós contidos totais de Zn, están próximos ó correspondente valor de fondo e en varias das mostras analizadas, especialmente as correspondentes a capas superficiais de viñedos en transición e en menor medida nas de ecolóxico, superáronse estes niveis de fondo. De feito, na capa subsuperficial non ese estableceron diferencias entre tratamentos, pero si na superficial (0-5cm), onde os contidos medios de Zn_T en solos en ecolóxico son superiores ós establecidos no manexo convencional.

Para profundar nas posibles implicacións deste incremento de concentracións totais respecto dos niveis de fondo, determináronse tamén os contidos dispoñibles destes dous micronutrientes.

As concentracións de Cu dispoñible son similares entre os diferentes tratamentos pero significativamente maiores na capa máis superficial que na subsuperficial dos solos avaliados e, en moitos casos, as concentracións dispoñibles superan os niveis indicativos de toxicidade, polo que o control de determinadas prácticas, especialmente para a implantación de novas plantas, debería facerse con coidado por posibles efectos fitotóxicos do Cu.

Os niveis de Zn dispoñibles (Zn_{ed}) son moi inferiores ós que están indicados como críticos para ocasionar problemas de fitotoxicidade, en calquera das dúas profundidades avaliadas e en calquera dos manexos estudados. Os valores medios son maiores na capa superficial que na subsuperficial e, aínda que non hai diferenzas significativas entre os manexos avaliados, a concentración media é sempre maior nos solos procedentes de fincas manexadas en ecolóxico, polo que hai maior dispoñibilidade nestes solos do Zn, cuxo orixe pode estar nalgún tratamento que se estea a empregar baixo este manexo, tal e como se describiu para o Mn.

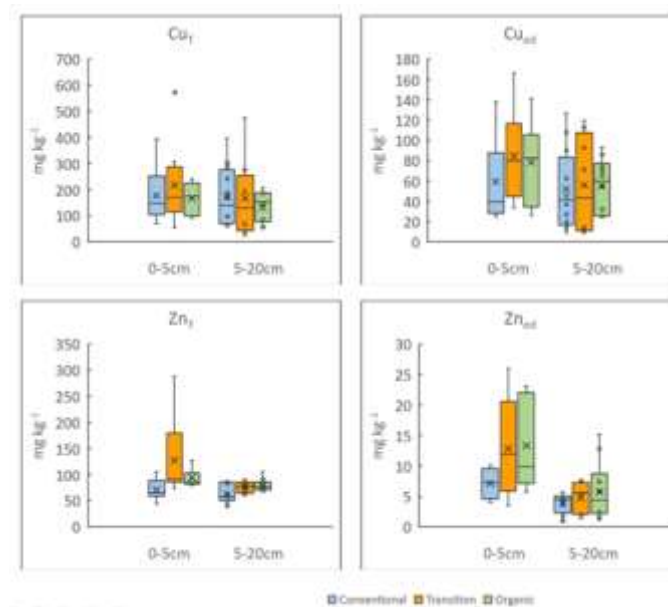


Figura 6. Contidos totais (T) e dispoñibles (ed) de Cu e Zn segundo a profundidade e o manexo dos solos avaliados.

Tendo en conta as relativamente altas concentracións de Cu e Zn determinadas nas diferentes mostras dos solos analizados, realizouse tamén un fraccionamento dese contido total mediante diferentes extraccións co obxecto de entender a distribución deste contido entre diferentes compoñentes ou fraccións do solo, indicativos segundo diferentes fontes bibliográficas do grao de atrapamento ou labilidade do metal obxecto de estudo.

Observouse, tal e como se amosa na Figura 7 que as fraccións dominantes para o Zn son ás que o manteñen vinculado a óxidos cristalinos de Fe e Al, en menor medida á materia orgánica e, principalmente, en máis dun 60% en todos os casos, á fracción residual. Esta fracción residual está considerada como a máis inerte no solo, polo que as relativamente altas concentracións de

Zn dos solos se atopan maioritariamente vinculadas ou atrapadas en fraccións principalmente inertes.

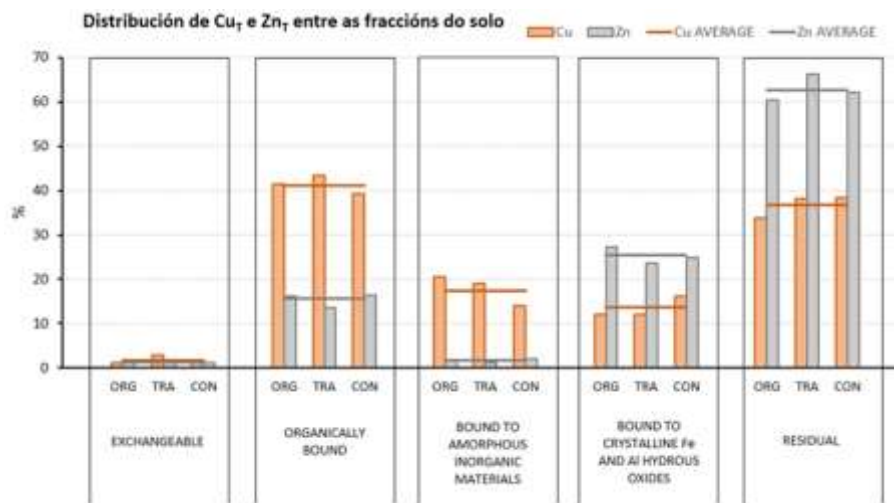


Figura 7. Distribución do contido total de Cu e Zn entre as diferentes fraccións dos solos baixo diferente manexo

Sen embargo, no caso do Cu, os resultados indican que esta fracción residual mais inerte non é a maioritaria (<40%) e que é a fracción mais vencellada á materia orgánica, a que presenta a maior proporción do xa moi alto contido de Cu total (>40%). Isto supón unha importante proporción de Cu relativamente lábil, que podería ser liberada moito mais facilmente que no caso do que está vencellado á residual, podendo ocasionar problemas de toxicidade por este elemento. Tendo en conta que o contido de materia orgánica é con frecuencia maior nas capas mais superficiais do solo e é a esta a onde está enlazado a maior parte do Cu, débese ter coidado con aquelas plantas que presenten un desenrolo das súas raíces nestas capas mais someras, especialmente plantas novas durante a súa temperá implantación por ser o lugar onde desenrolarán maioritariamente as súas raíces. Igualmente, incrementos na taxa de mineralización da materia orgánica dos solos poderían implicar un desprazamento dos contidos de Cu cara a disolución do solo que poderían alcanzar capas mais profundas do mesmo así como o acuífero ou outros ecosistemas mais sensibles.

Análise de residuos nos solos do Ribeiro

Los muestreos se realizaron en dos campañas diferentes, la primera a finales de Julio de 2022 y la segunda a mediados de febrero de 2023. De esta forma se ha pretendido evaluar los niveles máximos de residuos en suelo al final de la campaña del año 2022, y su disipación durante el otoño y el invierno antes del inicio de la siguiente campaña. Destacar que entre ambas campañas, el nivel promedio de precipitaciones registrado por diversas estaciones meteorológicas de la zona se situaron entre 600 y 700 mm por m², lo que resulta superior a la media de otras anualidades. La superficie de las parcelas investigadas ha variado desde unos 300 m² a más de 10000 m², en función del tipo de manejo y de la organización del suelo en diferentes zonas de la DOP Ribeiro. En cada parcela se ha trabajado con muestras compuestas, incluyendo 10 incrementos por muestra, respetando los mismos puntos de muestreo en ambas campañas. El personal de la Universidade de Santiago (USC), responsable de las determinaciones de residuos de fitosanitarios, ha participado directamente en todas las campañas de muestreo en colaboración con la coordinadora del proyecto (Dra. P. Blanco) e investigadores de la Universidad de Vigo (UVIGO).

Las muestras de suelos se han tamizado y liofilizado previamente a su análisis mediante LC-MS/MS (Pérez-Mayán et al., 2020). Los datos de concentración se expresan con ng/g, referidos a peso seco de suelo para la fracción con tamaño de partícula inferior a 2 mm. Adicionalmente a la determinación de las concentraciones totales, en el caso de fungicidas con centros quirales (ej. myclobutanil, metalaxyl, etc) se ha procedido a determinar sus relaciones enantioméricas (EFs), usando columnas quirales de LC (tipo polisacáridos) en combinación con espectrometría de masas en tandem (MS/MS). El estudio de las relaciones enantioméricas se ha limitado a aquellas muestras en las que las concentraciones totales de compuestos quirales se mantuvieron por encima de 10 ng/mL (vinos) o 10 ng/g (suelos). Los valores de EF son de utilidad para identificar procesos de degradación (suelos) o transferencia (vinos) diferentes entre los enantiómeros de compuestos comercializados como racémicos (la mayoría de fungicidas quirales), y/o para evaluar el grado de utilización de aquellos comercializados tanto como racémicos (ej. Metalaxyl y Benalaxyl) como en formulaciones que contienen solamente el enantiómero con acción fungicida (Metalaxyl-M y Benalaxyl-M). En el **Anexo II**-se muestra el listado de los residuos determinados en vinos y en suelos.

Del conjunto de pesticidas investigados en las muestras de suelos, tomadas de 15 parcelas diferentes, se identificaron un total de 22 fungicidas, 2 productos de transformación de fungicidas y 2 insecticidas a niveles superiores a los LOQs del procedimiento analítico (Anexo II-Tabla 2). Como cabría esperar, los valores máximos de residuos correspondieron a la capa superior de suelo (0-5 cm), en el muestreo de verano. Las Figuras 8 y 9 muestran los valores totales de residuos en esta capa superior de los viñedos en los muestreos de verano (Julio 2022) e invierno (Febrero 2023), agrupados según manejo del suelo. En ambos casos, se refleja también el número de compuestos cuantificados a valores superiores a 10 ng/g (el umbral de concentración

que fijan la mayoría de los laboratorios de control). Las diferencias entre las parcelas de manejo orgánico (ecológico) frente al resto es evidente. Los niveles bajos de residuos detectados en el primer grupo de parcelas (fundamentalmente en el muestreo de verano) podrían deberse a derivas durante la fumigación de explotaciones próximas y/o al histórico de cada parcela. Esta última información no está disponible para la elaboración del informe. Por otro lado, en lo relativo al contenido de residuos, la discriminación entre viñedos en transición y de manejo convencional, no resulta tan evidente.

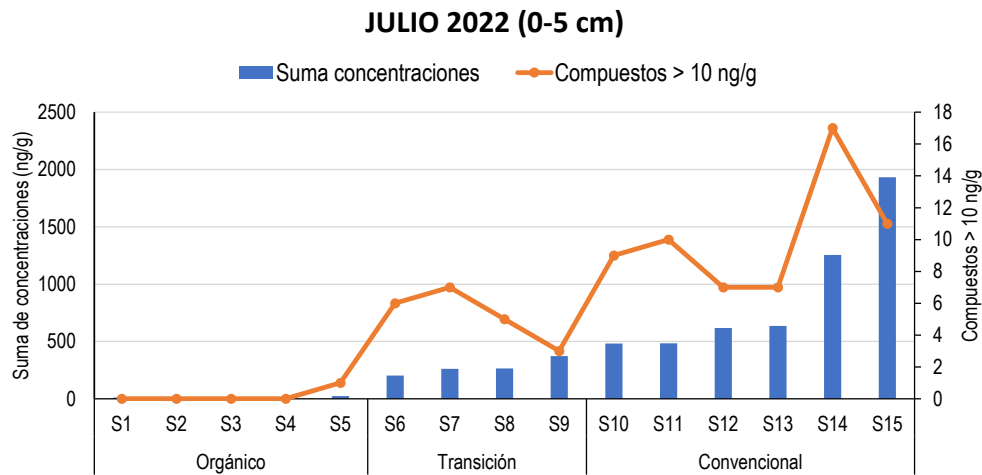


Figura 8. Residuos totales de pesticidas (ng/g) en suelos de viñedo y número de compuestos a concentraciones superiores a 10 ng/g. Muestreo de verano.

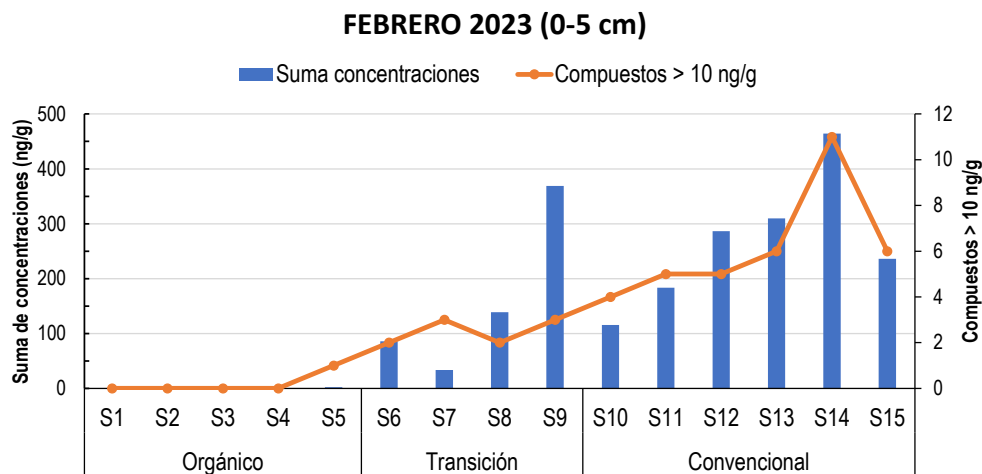


Figura 9. Residuos totales de pesticidas (ng/g) en suelos de viñedo y número de compuestos a concentraciones superiores a 10 ng/g. Muestreo de invierno.

En las Figuras 10 y 11 se recogen datos correspondientes a compuestos individuales, referidos a la capa superior del suelo agrícola, correspondientes a las explotaciones con manejo convencional y en transición. En primer lugar, se muestran los datos de frecuencia de detección en ambas campañas y a continuación las medianas de su concentración. La interpretación de estos datos no resulta obvia dado que no se ha tenido acceso a los tratamientos realizados en el 2022, ni los anteriores, en las parcelas convencionales y en transición. Sin embargo, algunas conclusiones son obvias.

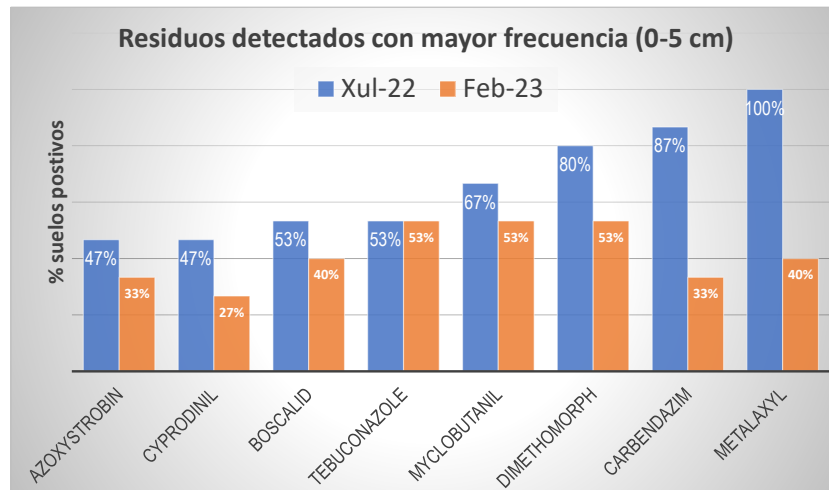


Figura 10. Porcentaje de detección en suelos de viñedos convencionales y en transición.

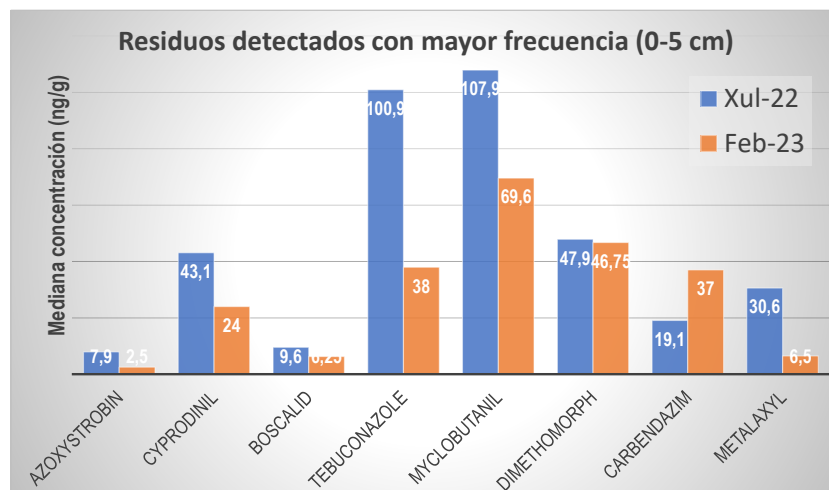


Figura 11. Medianas de concentración (ng/g) para compuestos seleccionados.

En primer lugar, a diferencia de lo que ocurre con los vinos, el metalaxyl no es un residuo persistente en los suelos. Tanto su frecuencia de detección como los valores de concentración caen significativamente entre muestreos (Figura 12 y 13). Para los dos fungicidas azólicos

(myclobutanil y tebuconazole), dimetomorph y boscalid, la reducción de número de muestras positivas y medianas de concentración no es tan evidente. En concreto, en el caso de dimetomorph, la mediana permanece inalterada y para boscalid el dato de la mediana es muy próximo al límite de cuantificación de método. En el caso concreto de myclobutanil (no autorizado desde mayo de 2021), los niveles (mediana de concentraciones) en suelo siguen siendo elevados tanto en las campañas de 2022 como en la de invierno de 2023. La recomendación es seguir muestreando las parcelas positivas para este fungicida al objeto de poder evaluar su disipación en campo. Finalmente, para el producto de transformación carbendazim, se ha observado un repunte en la mediana de su concentración entre verano e invierno.

El riesgo de migración de pesticidas desde la capa superior de los suelos agrícolas a aguas subterráneas está relacionado directamente con su perfil de penetración en los suelos. En condiciones de campo, el estudio de penetración en terreno es un proceso complejo ya que está condicionado por movimientos del suelo, el arrastre desde la capa superficial por escorrentías en periodos de tormenta o lluvias intensas, las características de cada compuesto, y su capacidad de retención por parte de cada suelo. Este último factor, a su vez viene condicionado por textura, pH, contenido en materia orgánica etc. Los porcentajes de residuos en la capa inferior (5 cm -20 cm) frente a la superior (0 cm – 5 cm) en cada una de las dos campañas, para las parcelas en proceso de transición y las explotadas de forma convencional se muestran en la Figura 12.

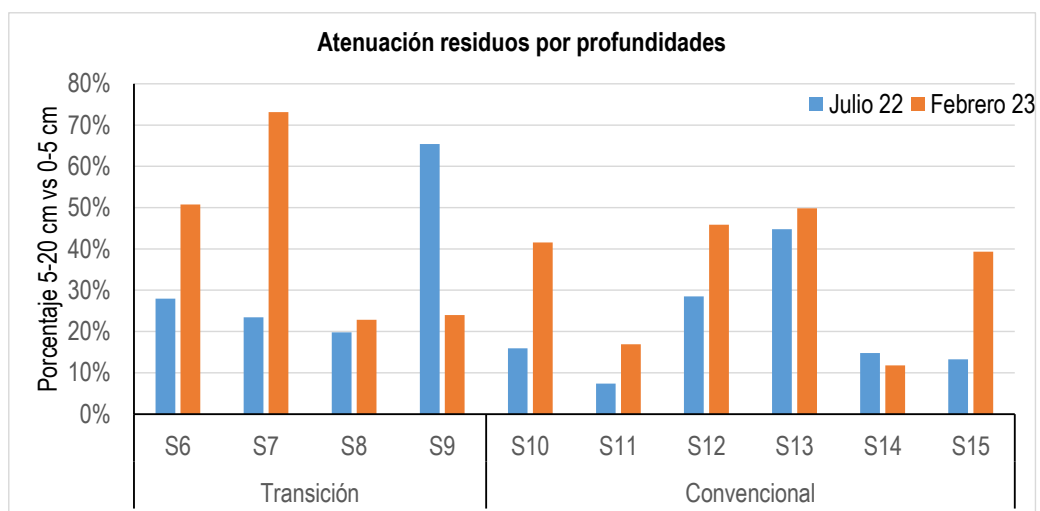


Figura 12. Concentraciones relativas en la capa inferior (5 - 20 cm) frente a la superior (0- 5 cm) en los muestreos de suelos.

A excepción del comportamiento anómalo observado en la parcela S9, los niveles relativos de residuos totales en la capa inferior, frente a la superior, en el muestreo de Julio de 2022, variaron entre un 7% y un 45%, con un valor medio de 22%. En el muestreo de Febrero del año 2023, para los mismos puntos, estos porcentajes se encontraron entre el 17% y un 73% con valor promedio de 39%. Estos datos apuntan a una posible penetración de los compuestos en suelo,

desde la capa superior hacia la inferior, o simplemente a una cinética de eliminación más rápida en la capa superior que en la inferior.

Los residuos relativos por capas de terreno, en cada uno de los dos muestreos (febrero frente a julio), se presentan en la Figura 13. De nuevo, con la excepción de la parcela S9, los valores relativos de concentración son mayores en febrero que en julio. Es decir, la reducción en el contenido de residuos es mayor y/o más rápido en la capa superior del terreno que en la inmediatamente inferior.

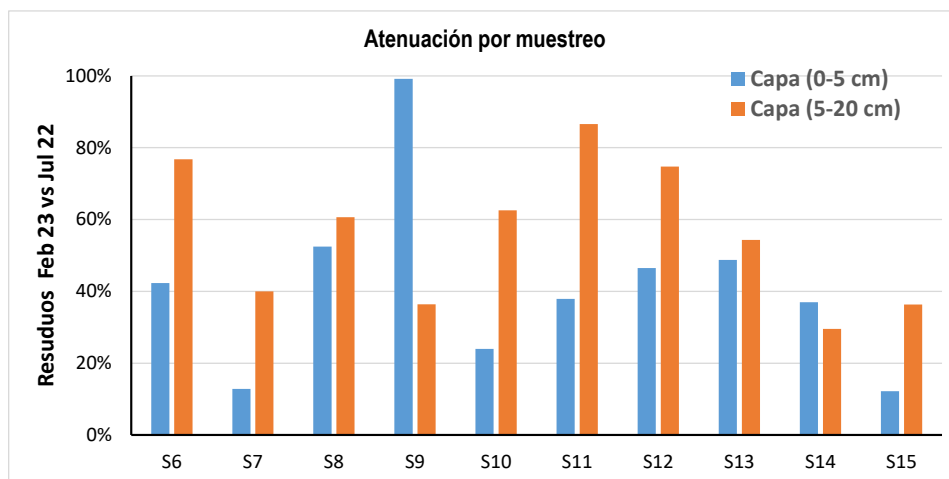


Figura 13. Reducción de residuos entre muestreos en función de la profundidad.

La comparación de concentraciones medidas en la capa inferior, para compuestos individuales, entre ambos muestreos ha permitido confirmar que, en tres ocasiones, las concentraciones de dimethomorph, myclobutanil y tebuconazol se vieron incrementadas en la capa inferior del suelo desde Julio de 2022 a Febrero de 2023 (Figura 14). Dejando a un lado movimientos de suelo en las parcelas, la explicación para este incremento es su migración en profundidad.

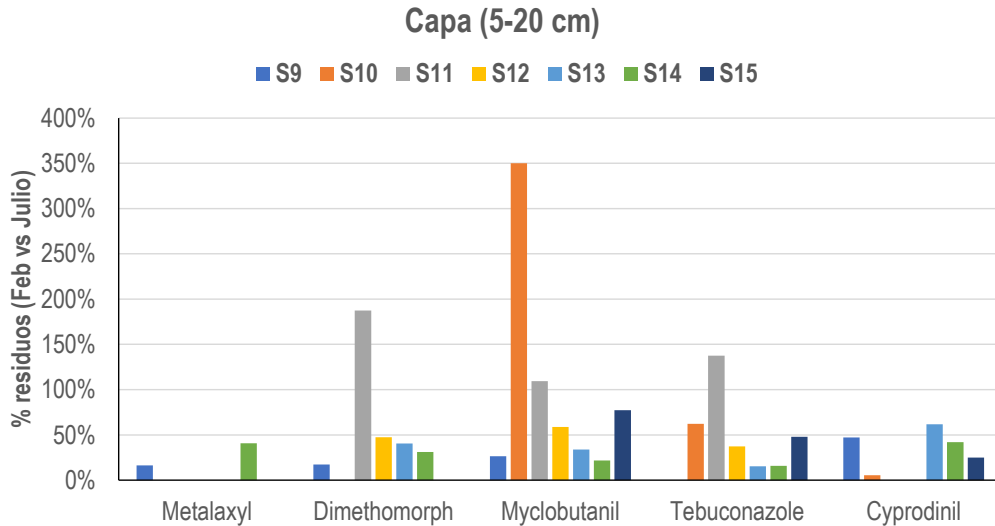


Figura 14. Variación entre muestreos en las concentraciones individuales de ciertos pesticidas en la capa inferior de suelo.

Los datos de las fracciones enantioméricas (EFs) para los tres compuestos quirales detectados con mayor frecuencia en las muestras de suelos se muestran en la Figura 15. En el caso del metalaxyl, la variabilidad en los datos de EF es muy elevada, con valores medios y medianas inferiores a 0.5. Esto equivale a que el metalaxyl-M (forma R) se disipa más rápido en algunos de los suelos que el enantiómero no activo (forma S). En el caso de myclobutanil y tebuconazol, la variabilidad en los valores de sus EFs es muy baja, con una distribución simétrica de datos en torno a 0.5. Por tanto, la degradación de ambos compuestos no es un proceso enantioselectivo en los suelos considerados.

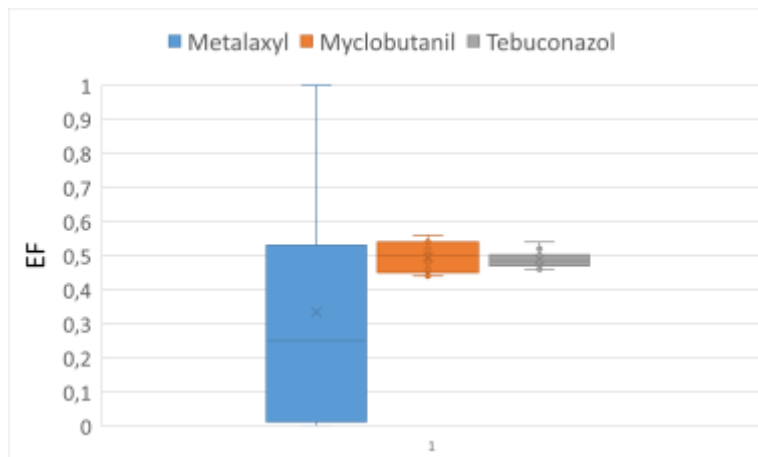


Figura 15. Fracciones enantioméricas (EFs) de metalaxyl, myclobutanil y tebuconazole en suelo de viñedo.

Análise do microbioma dos solos do Ribeiro

A análise do microbioma do solo fíxose a través dun servizo externo (Biome makers). As mostras enviáronse ó seu laboratorio en Valladolid (sen secar nen peneirar).

Alí realizouse a extracción do ADN do solo, a amplificación das rexións 16S do rRNA en bacterias e a rexión ITS en fungos mediante PCR para a súa posterior secuenciación (NGS). Esta empresa tamén levou a cabo a análise bioinformática dos resultados, o estudo das redes microbianas e dos índices BeCrop. Os resultados da abundancia das distintas especies nos solos preséntanse no Anexo IV.

Os resultados obtidos indicaron que os manexos máis sustentables no viñado aumentaban a diversidade tanto de procariotas como de fungos, pero estas diferenzas non eran significativas (Figura 16)

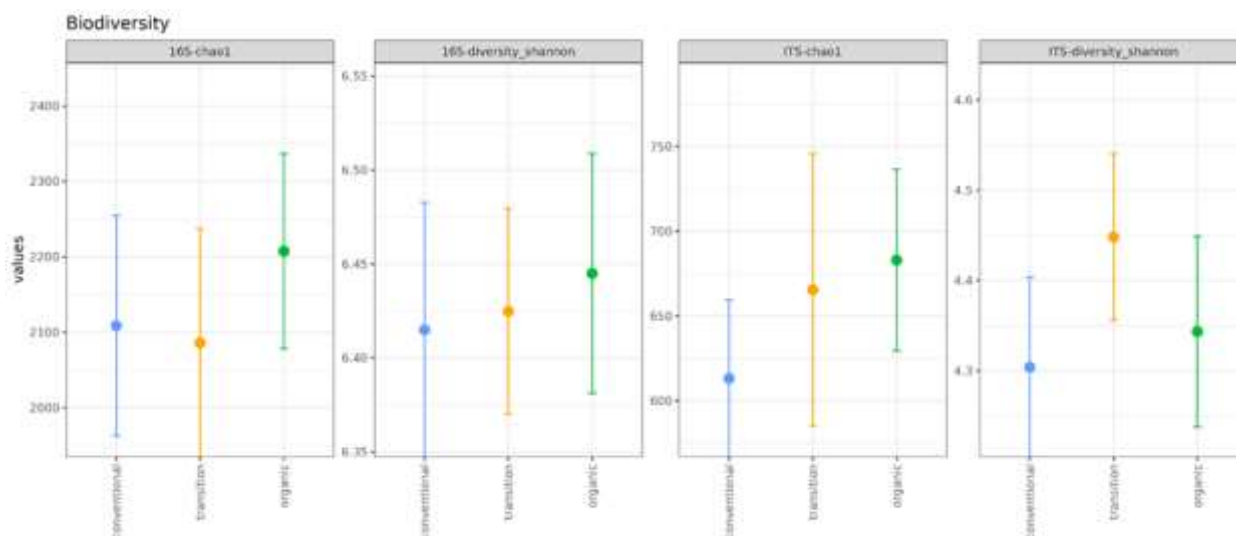


Figura 16. Diversidade de bacterias en fungos (Índices Chao e Shannon) en solos baixo distinto manexo.

O estudo da beta-diversidade puxo de manifesto as diferenzas entre as comunidades microbianas nas parcelas de distinto manexo (Figura 17).

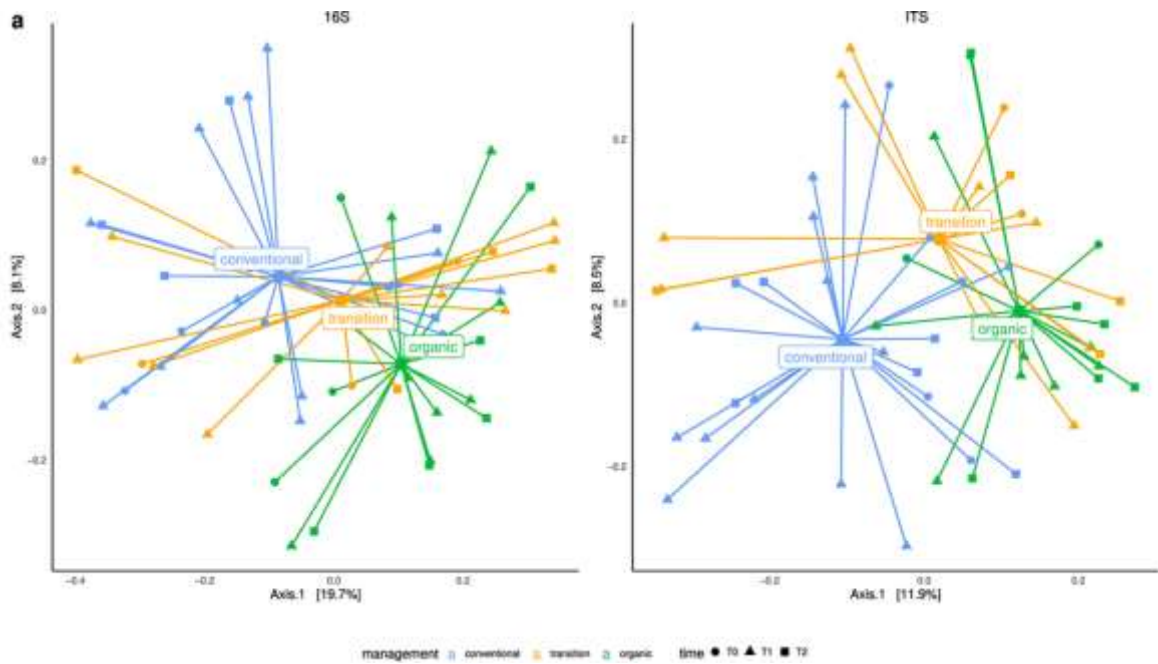


Figura 17. Agrupamento das mostras baixo distinto manexo.

Na Figura 18 observamos que o core microbioma difire nos distintos manexos. Na poboación de bacterias destacan os xéneros *Nitrosocosmicus* e *Bradyrizobium* en manexo ecolóxico que teñen menor representación en transición ou en solos de manexo convencional. Baixo manexo ecolóxico o número de xéneros exclusivos é maior tanto de bacterias como de fungos.

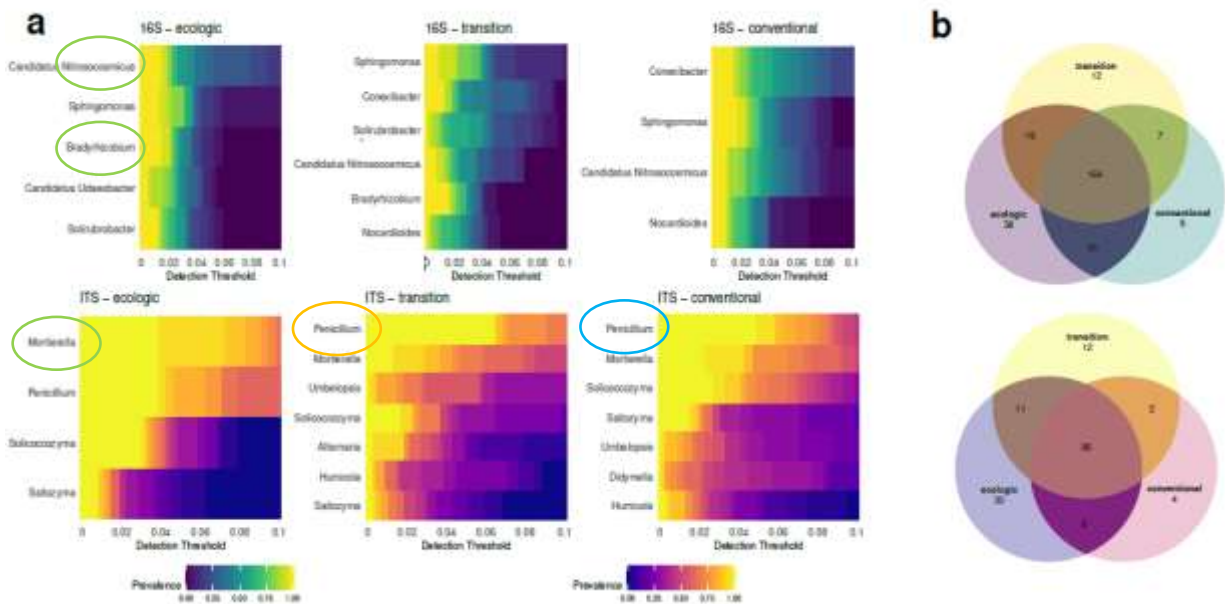


Figura 18. a) heatmaps; b) Número de xéneros compartidos e exclusivos de procariotas (arriba) e fungos (abaixo).

Por outra banda, cando se analizou a correlación entre a poboación de bacterias e fungos e as distancia xeográficas observouse unha clara diferenciación entre as mostras que define o terroir microbiano asociado ós vales do Miño, do Avia e do Arnoia (Figura 19).

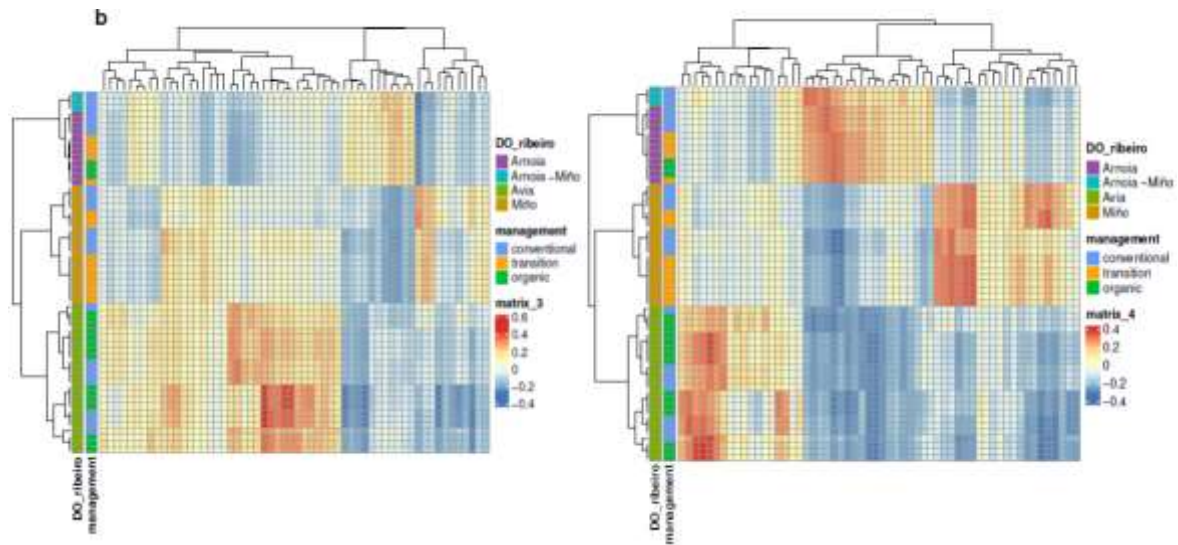


Figura 19. Evidencia do terroir microbiano asociado aos vales do Miño, Avia e Arnoia.

Mediante o estudo dos patróns de concorrencia e coexclusión pódense estimar propiedades ecolóxicas de interese como a especialización nun nicho, competitividade, etc. para entender a funcionalidade do microbioma. Neste caso observouse que os manexos sustentables do viñado promoven redes microbianas máis compactas, máis interconectadas, que están relacionadas con maior resistencia e resiliencia fronte a condicións de estrés. Pola súa banda o manexo convencional dá lugar a redes máis especializadas que implica menor cooperación e son máis susceptibles a ser perturbadas (Figura 20).

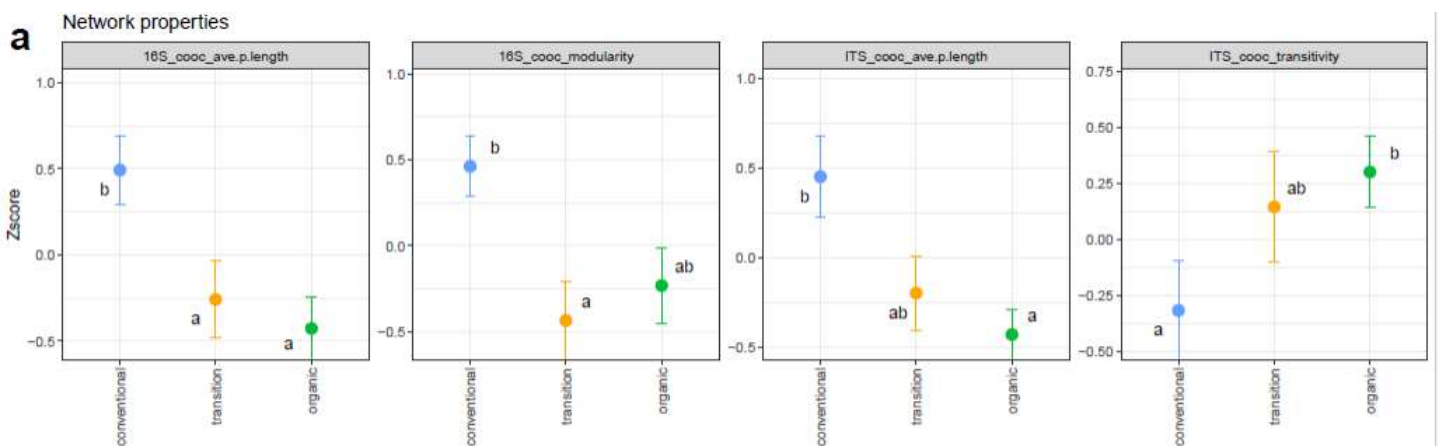


Figura 20. Análise das redes microbianas en solos de viñado baixo distintos manexo.

Finalmente, calculáronse os índices BeCrop nas distintas parcelas. Os índices BeCrop son unha serie de indicadores que nos dan idea do estado de saúde e calidade do solo (Anexo V). Os resultados mostraron que o manexo sustentable do solo do viñedo favorece ós índices relacionado coa calidade do solo e co transporte do cloro, magnesio e os ciclos do nitróxeno, fósforo e potasio, así como a produción de exo-polisacáridos (Figura 21).

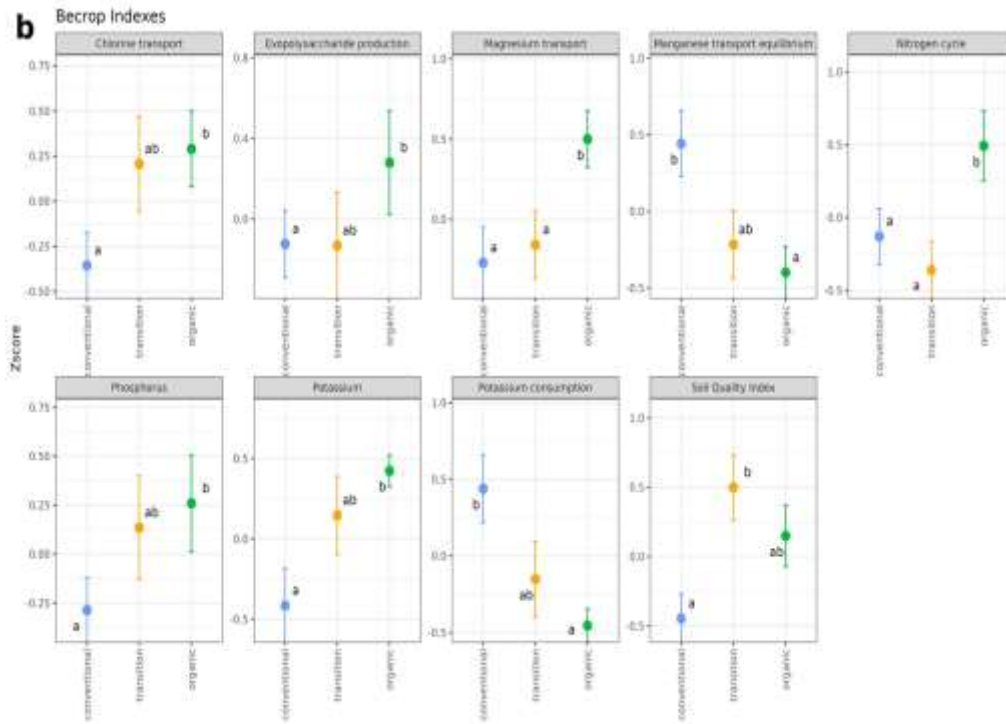


Figura 21. Índices BeCrop con diferenzas significativas entre os distintos manexos do solo.

Análise de uvas e mosto

En 2021 recolleuse uva de fincas baixo distinto manexo e nunha finca abandonada. Esta campaña foi moi mala, nalgunhas fincas traballadas en ecolóxico case non se puido salvar nada da colleita. En 2022 recolléronse uvas en cinco fincas seleccionadas: 2 de manexo ecolóxico e 3 de manexo convencional. Nesta campaña o rendemento de uva foi inferior en manexos sustentables como está documentado noutros estudos deste tipo.

Coas mostras de uva avaliáronse os microorganismos presentes pondo especial atención nos de interese fermentativo. Os resultados das especies presentes e a súa abundancia están recollidas nos anexos VI para bacterias e no anexo VII para fungos. Así; a nivel de fungos observouse a presenza de *Lachancea thermotolerans* e *Pichia kudriavzevii* con abundancia >1% en fincas de cultivo convencional. Ademais observouse que predominaron os mesmos xéneros de fungos que nos solos con especial relevancia de *Mortierella*, *Aspergillus*, *Solicoccozyma*, *Penicillium* e *Alternaria*. No caso das bacterias observouse unha separación das mostras do val do Avia con respecto ao do miño e Arnoia (terroir microbiano) na campaña do 2021, feito que axudaría á diferenciación dos viños (Figura 22). En canto a bacterias de interese fermentativo detectouse presenza das bacterias lácticas *Oenococcus oeni* e *Lactobacillus* sp. nalgunhas mostras.

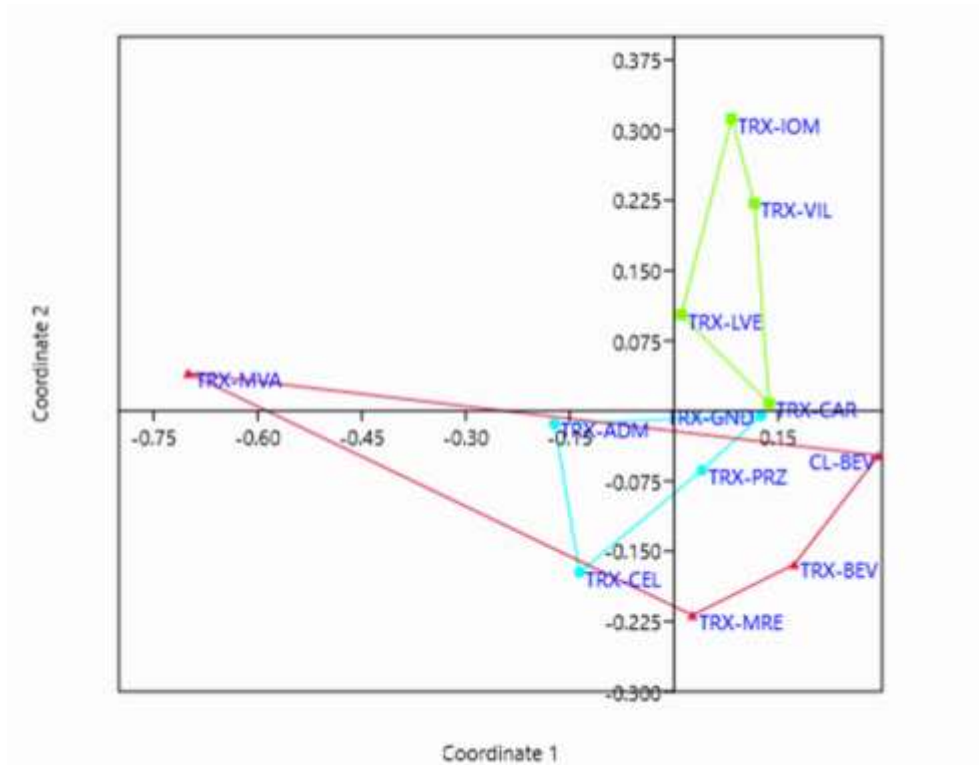


Figura 22. Distribución das mostras de uva de 2021 procedentes de distintos vales.

Adicionalmente, se realizó un control de la presencia de residuos de pesticidas en muestras de mosto elaborado con uva procedente de cinco parcelas diferentes, correspondientes a la campaña del año 2022. Tres de estas parcelas se explotan de forma convencional, y las otras dos bajo condiciones de cultivo ecológico. Los análisis de la fracción en disolución (mosto filtrado), usando la misma metodología aplicable a vinos, indicó que los mostos procedentes de parcelas de cultivo ecológico no contenían residuos significativos de pesticidas. El mismo comentario es válido para una de las parcelas de manejo convencional. Los compuestos identificados, por encima de 10 ng/mL, en la fracción soluble de los otros dos tipos de mosto fueron metalaxyl, cyprodinil, fludioxonil, mandipropamide y zoxamide. La figura 23 muestra los cocientes entre las concentraciones en disolución (ng/mL) y el contenido total en el mosto sin filtrar (ng/g). Cuando mayor sea el valor del cociente obtenido, mayor el riesgo de transferencia de estos compuestos desde mosto a vino. El *ratio* obtenido para metalaxyl es claramente superior al correspondiente al resto de compuestos, lo que está en buen acuerdo con la prevalencia de este compuesto en las muestras de vino procesadas.

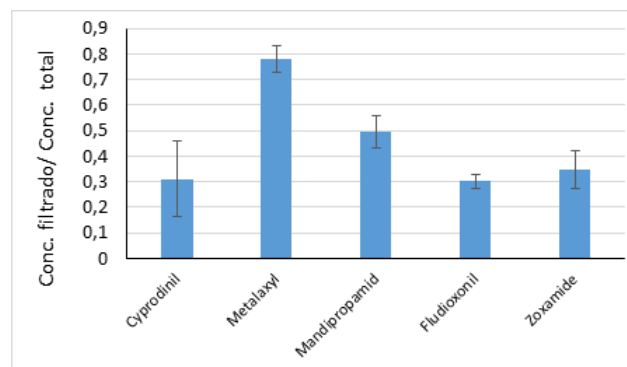


Figura 23. Cociente de concentraciones de fungicidas entre mosto filtrado y sin filtrar.

Caracterización química dos viños da DOP Ribeiro

Debido a escaso número de viños certificados como ecolóxicos e dentro do CR da DOP Ribeiro, na avaliación dos viños non se tivo en conta esta diferenciación. As mostras foron subministradas polo CR e por adegas particulares.

En total avaliáronse 220 viños: 163 brancos e 57 tintos das anualidades 2017 a 2022

Os viños analizados superaron o control cata no consello Regulador da DOP Ribeiro.

Os **parámetros químicos básicos** foron analizados no laboratorio acreditado da Evega seguindo a metodoloxía oficial da OIV (Foto 3).



Foto 3. Análise dos viños no laboratorio de Evega.

Os resultados para cada viño poden consultarse no Anexo VIII. A media obtida para os viños brancos e tintos preséntase nas Táboas 1 e 2, respectivamente.

Táboa 1. Parámetros básicos dos viños brancos do Ribeiro.

Nº viños=	Media	Max	Min	Regulación DOP
Acidez total (g tart./L)	5,4±0,6	8	3,7	4-10
Acidez volátil (g acét./L)	0,43±0,17*	1,44	0,2	0,8 (máx)
Ácido Láctico (g/L)	0,8±0,8	3,6	0,1	
Ácido Málico (g/L)	1,8±0,9	4	0,1	
Ácido Tartárico (g/L)	1,7±0,6	3,5	0,5	
Azucro (g/L)	1,4±1,2	4,7	0,2	
SO ₂ libre (g/L)	18±6	38	10	
SO ₂ total (g/L)	120±37*	208	23	200
Glicerol (g/L)	5,7±0,8	8,8	4,3	
Grao alcohólico (% vol/vol)	12,6±0,8	14,9	10,4	9,5-12 (mín.)
pH	3,47±0,16	4,57	2,95	

Táboa 2. Parámetros básicos dos viños tintos do Ribeiro.

	Media	Max	Min	
Acidez total (g tart./L)	5,6±0,6	7,5	4,5	4-10
Acidez volátil (g acét./L)	0,74±0,24	1,7	0,39	0,8 (máx.)
Ácido Láctico (g/L)	2,2±0,5	3,87	1,2	
Ácido Málico (g/L)	0,3±0,2	0,7	0,1	
Ácido Tartárico (g/L)	1,8±0,5	2,9	0,9	
Azucres (g/L)	0,6±0,4	1,6	0,2	
SO ₂ libre (g/L)	16±4,6	26	10	
SO ₂ total (g/L)	58±22	104	21	150
Glicerol (g/L)	8,4±1,0	10,7	6,3	
Grao alcohólico (% vol/vol)	12,4±0,8	15	10,5	9,5-12 (mín.)
pH	3,65±0,16	3,99	3,11	

En xeral as características químicas dos viños estaban dentro dos rangos establecidos no prego de condicións da DOP, excepto algún caso para a acidez volátil ou para o límite de SO₂ total. A media de acidez volátil dos viños tintos foi máis alta nos tintos, así como o contido de glicerol. Ademais, os valores de ácidos láctico e málico indicaron que todos eles tiñan feita a fermentación maloláctica. No caso dos viños brancos so algúns fixeran esta segunda fermentación total ou parcialmente.

Para a **caracterización aromática** recolléronse 165 mostras das cales seleccionáronse 145 viños dos que tiñamos información suficiente. A campaña 2022 non foi incluída xa que estes viños aínda non foran embotellados. Os viños clasificáronse por anadas e vales.

As mostras gardáronse conxeladas en Evega ata que foron recollidas ou enviadas ao ICVV. Allí as mostras se descongelaron, centrifugaron e filtraron para proceder al análisis de compuestos volátiles.

Metodoloxía: los compuestos volátiles fueron analizados mediante extracción líquido-líquido (LLE) y cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS) de acuerdo con la metodología propuesta por Vilanova et al. (2010) y Coelho et al. (2020).

A 8 mL de vino se le añadieron 10 µL de patrón interno (4-nonanol) y 400 µL de diclorometano puro. La mezcla se agitó durante 15 min y se mantuvo a -20 °C durante 10 min. Posteriormente la muestra fue centrifugada y se retiró la fase orgánica. Los extractos se inyectaron en el cromatógrafo GC Agilent 6890N acoplado a un espectrómetro de masas con trampa de iones Agilent 5975C y una columna capilar DB-Wax (30m; 0.25mm i.d., 0.2 µm film thickness, Chrompack). La temperatura del inyector y la línea de transferencia de MS se fijaron a 250 °C. La temperatura del horno se mantuvo a 60 °C, durante 2 min, luego se programó para que

aumentara de 60 °C a 234 °C, a 3 °C /min y de 234 °C a 260 5C a 5 °C /min; Finalmente se mantuvo 10 min a 260 °C. El gas portador fue helio a un caudal constante de 1.3 mL/min.

Se realizó una inyección de 1 µL en el modo splitless, durante 30 s (split 30 ml/min). El detector se configuró en modo de impacto electrónico (70 eV), con un rango de adquisición de 35 a 300 m/z y una tasa de adquisición de 610 ms. La identificación de compuestos volátiles se realizó utilizando el software MassHunter Workstation de Agilent, comparando los espectros de masas (NIST) y los índices de retención con los de los compuestos estándar puros. Todos los compuestos fueron cuantificados como equivalentes al patrón interno (4-nonanol). (Foto 4)

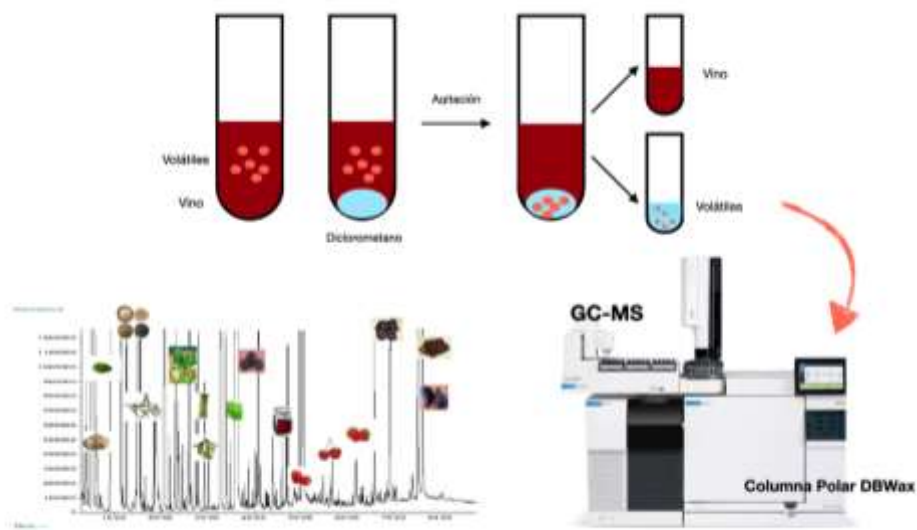


Foto 4. Esquema del proceso de extracción, identificación y cuantificación de compuestos volátiles en vinos mediante LLE/GC-MS.

Los resultados obtenidos fueron tratados estadísticamente con el paquete estadístico XLSTAT de Addinsoft. Los análisis estadísticos realizados fueron medias, desviación estándar, análisis de la varianza (ANOVA) y Análisis de Componentes Principales (ACP).

A continuación, se muestran los resultados obtenidos de análisis de los vinos por cosechas en vinos blancos (Figura 24 a y b) y tintos (Figura 25 a y b).

Los vinos blancos del Ribeiro mostraron una mayor concentración total de compuestos volátiles en las cosechas 2017-2018 (Figura 24a) respecto a las cosechas 2019, 2020 y 2021. Las concentraciones más bajas se observaron en las cosechas 2019 y 2021.

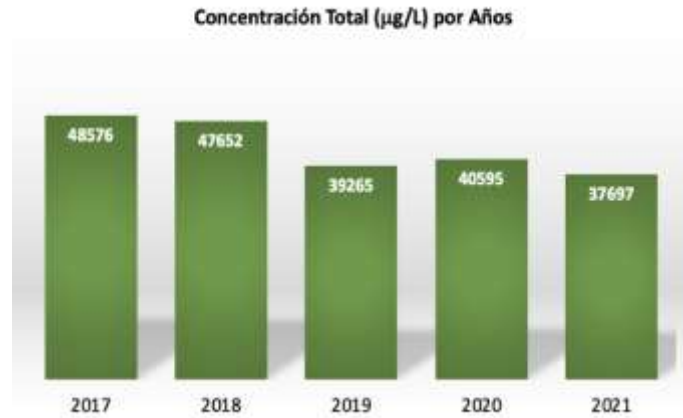


Figura 24a. Composición volátil total por cosecha en vinos blancos del Ribeiro

El Análisis de Componentes Principales (ACP) muestra las familias de compuestos volátiles que caracteriza a cada una de las cosechas de los vinos blancos del Ribeiro (Figura 2b). Como se puede observar las cosechas 2017 y 2018 estuvieron caracterizadas por la mayor parte de las familias de compuestos volátiles. Además, la cosecha 2018 mostró mayores concentraciones de terpenos y C13-norisprenoides, compuestos varietales caracterizados por sus aromas florales y frutales.

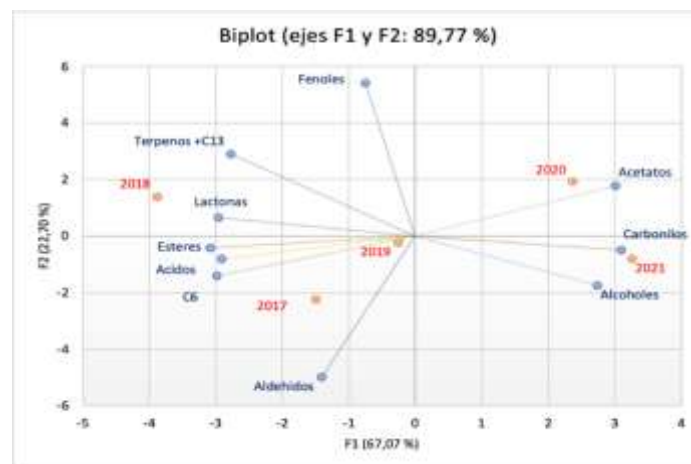


Figura 24b. ACP por familias químicas de compuestos volátiles y por cosecha en vinos blancos del Ribeiro.

En el caso de los vinos tintos las mayores concentraciones se encontraron en las cosechas 2018 y 2020 respecto a las cosechas 2019 y 2021 (Figura 25a).

El Análisis de Componentes Principales (ACP) muestra altas concentraciones de familias de volátiles en la cosecha 2020. Además, al igual que ocurre en los vinos blancos, la cosecha 2018 mostró una mayor concentración de terpenos y C13-norisoprenoides (Figura 25b).

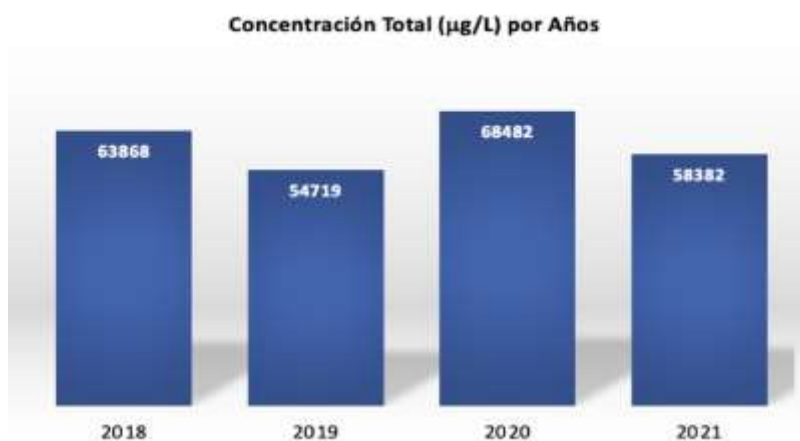


Figura 25a. Composición volátil total por cosecha en vinos tintos del Ribeiro.

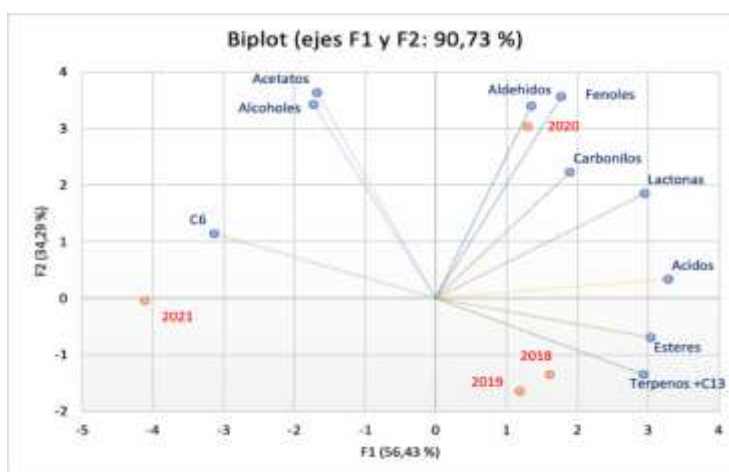


Figura 25b. ACP por familias químicas de compuestos volátiles y por cosecha en vinos tintos del Ribeiro

Además, se analizaron los vinos por valle. Los resultados por valle en vinos blancos se muestran en las figuras 26 a y b, y en vinos tintos en las figuras 27 a y b. Los vinos blancos del Ribeiro mostraron una mayor concentración total de compuestos volátiles en el Valle de Arnoia respecto a los Valles de Avia y Miño (Figura 26a). Los Valles Avia y Miño mostraron una concentración total de compuestos volátiles similar y significativamente menor que en el Valle de Arnoia



Figura 26a. Composición volátil total por Valles en vinos blancos del Ribeiro

El Análisis de Componentes Principales (ACP) muestra las familias de compuestos volátiles que caracteriza los vinos blancos pertenecientes a cada uno de los Valles del Ribeiro (Figura 26b). Como se puede observar el Valle de Arnoia estuvo caracterizado por la mayor parte de las familias de compuestos volátiles. Sin embargo, fue el Valle de Avia el que mostró mayores concentraciones de terpenos y C13-norisprenoides, compuestos varietales caracterizados por sus aromas florales y frutales.

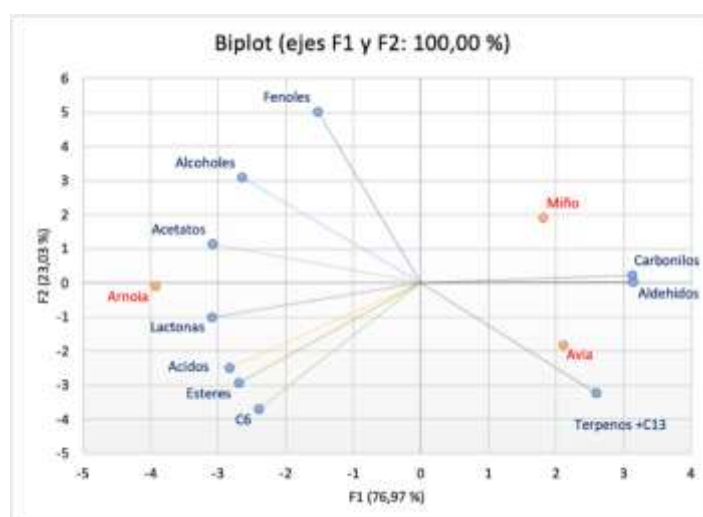


Figura 26b. ACP por familias químicas de compuestos volátiles y por Valles en vinos blancos del Ribeiro.

En el caso de los vinos tintos las mayores concentraciones se encontraron en el Valle de Arnoia seguido por el Valle de Avia. La menor concentración total se observó en el Valle de Miño (Figura 27a). El Análisis de Componentes Principales (ACP) muestra altas concentraciones de la mayor parte de las familias de volátiles en el Valle de Arnoia. Además, la mayor concentración de terpenos y C13-norisoprenoides también se observó en los vinos tintos del Valle de Arnoia (Figura 27b).



Figura 27a. Composición volátil total por Valles en vinos tintos del Ribeiro.

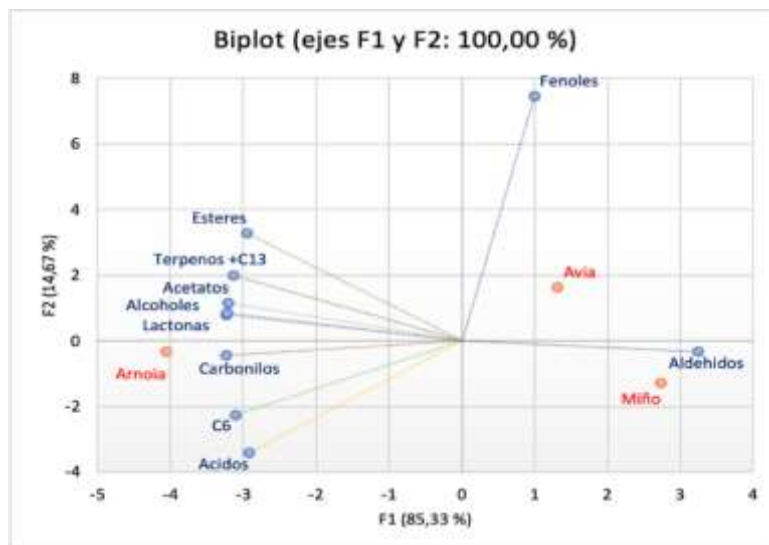


Figura 27b. ACP por familias químicas de compuestos volátiles y por Valles en vinos tintos del Ribeiro.

Calidade microbiolóxica dos viños do Ribeiro

Os microorganismos son esenciais na elaboración do viño. Os lévedos son os responsables da fermentación alcohólica (FA) e as bacterias lácticas da fermentación maloláctica (FML). Sen embargo, unha vez rematadas a presenza destes microorganismos pode causar alteración da calidade do viño. Os lévedos poden causar re-fermentacións (se quedan azucres residuais), flor (por crecemento na superficie (lévedos oxidativos) ou defectos como o causado por *Brettanomyces* por produción de fenois volátiles. Pola súa banda as bacterias lácticas poden causar o picado láctico do viño e outras alteracións. Outras bacterias temidas son as acéticas que transforman o viño en vinagre. Para evitar estas alteracións é conveniente seguir unha serie de boas prácticas na adega que axudan a previr estes problemas. Non existe unha lexislación sobre a cantidade de microorganismos que pode conter un viño, pero considérase que non debe afectar o seu aspecto visual.

A análise microbiolóxica levouse a cabo no laboratorio de Bioloxía da E Vega. Rutineiramente filtráronse 50 mL de viño a través dunha membrana de 0,22 μm que se incubou no medio de cultivo WL Nutrient Agar durante 2-4 días a 20°C. Tras ese período observouse se había presenza ou ausencia de crecemento microbiano. En caso positivo, contáronse as colonias e observouse a súa morfoloxía, así como o tipo de microorganismos (lévedo ou bacteria) ao microscopio (Figura 28). Os viños tintos sementáronse ademais nun medio para crecemento de *Brettanomyces*.

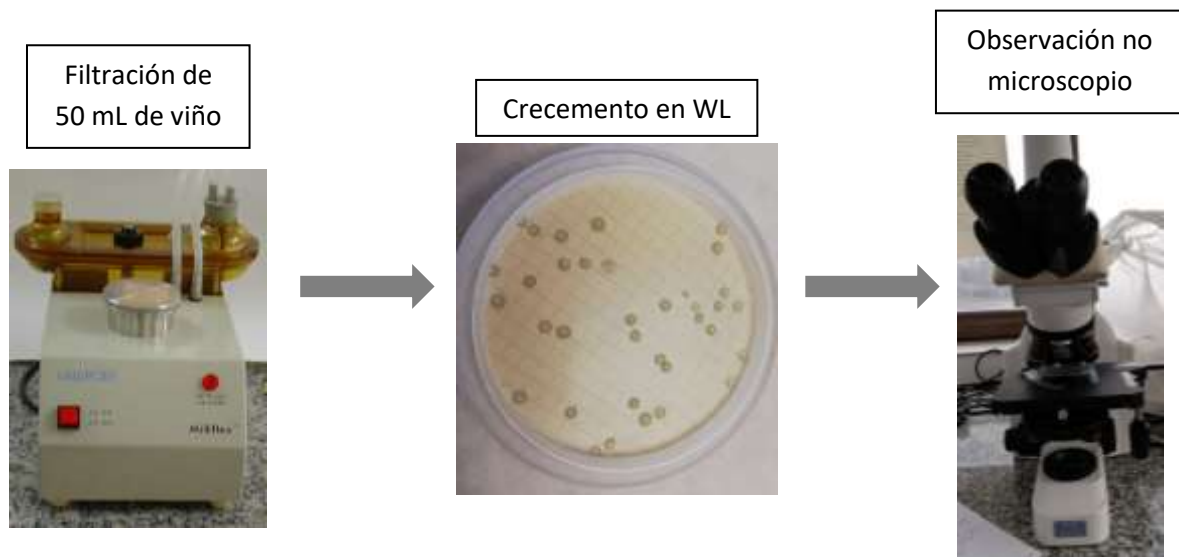


Figura 28. Análise microbiolóxica dos viños

Dos viños brancos analizados apreciouse presenza de microorganismos nun 41% (67 viños) e nos tintos nun 51 % (29 viños).

No caso dos viños brancos positivos en crecemento microbiano había presenza de bacterias en 12 viños e de lévedos en 59 viños. Destes últimos, en 45 o número de lévedos estaba entre 0-10 cél por mL, e só en 4 deles había >200 cél /mL, concentración que se cree podería dar problemas no viño (Figura 29)

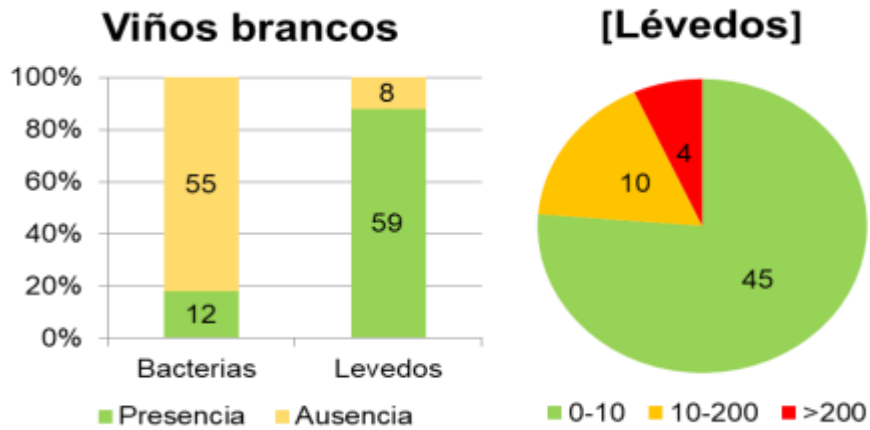


Figura 29. Presenza de microorganismos en viños brancos e concentración de lévedos

No caso dos viños tintos positivos en crecemento microbiano había presenza de bacterias en 15 viños e de lévedos en 20 viños; detectándose *Brettanomyces* en 10 deles (Figura 30). Destes últimos, en 10 o número de lévedos estaba entre 0-10 cél por mL, e en 7 deles había >200 cél /mL. Ademais, na figura 26 podemos ver unha placa con crecemento positivo en medio selectivo para a detección de *Brettanomyces* e a última e dun viño con crecemento de bacterias e lévedos .

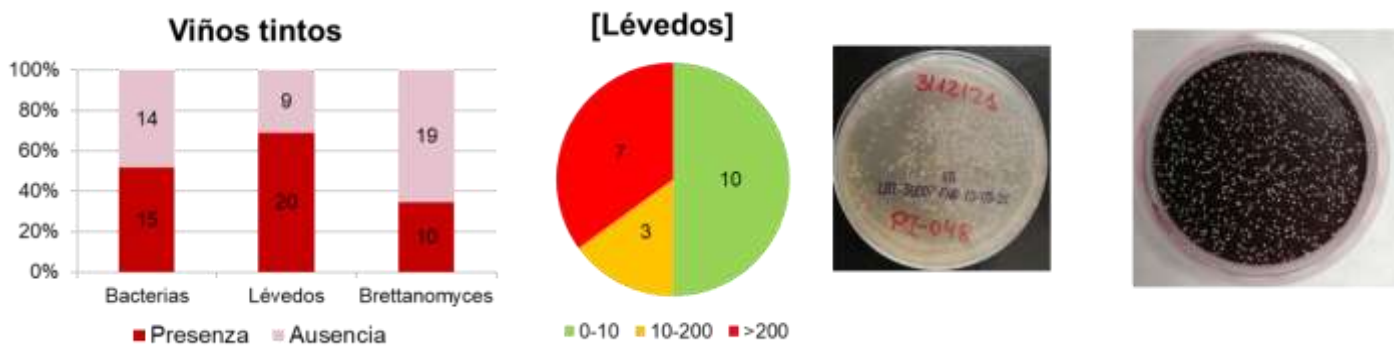


Figura 30. Presenza de microorganismos en viños tintos e concentración de lévedos

Polo tanto, a calidade dos viños do Ribeiro en canto a riscos de alteración microbiolóxica é boa xa que en moi poucos viños a contido e lévedos e/ou bacterias era maior de 200 cél/mL. A presenza de lévedos e/ou bacterias é mais frecuente nos tintos como e de esperar xa que non se filtran amicrobicamente, o proceso de elaboración é máis longo e a concentración de SO2 menor, como vimos no obxectivo 3.

Análisis de residuos de fungicidas en vinos

El control de los residuos de fitosanitarios realizado sobre vinos de la DOP Ribeiro incluye un total de 220 muestras, elaboradas durante las campañas comprendidas entre los años 2017 y 2022, correspondientes tanto a vinos blancos como tintos. Las muestras se han recibido con una codificación numérica, correlativa, e información básica referente al año de producción, sin identificación de productor, ni bodega, ni marca.

La determinación del contenido de residuos de fitosanitarios en muestras de vinos y suelos se ha llevado a cabo en el laboratorio de Química Analítica, del Instituto de Investigaciones en Análisis Químicos y Biológicos (IAQBUS), de la Universidad de Santiago, empleando métodos de análisis desarrollados por los responsables del informe, y basados en el uso de cromatografía líquida, en la modalidad de fase reversa, con espectrometría de masas en tandem (LC-MS/MS) como técnica de determinación. Los compuestos investigados en cada una de las dos matrices (vinos y suelo), y los niveles mínimos determinables (límites de cuantificación, LOQs) con la metodología empleada se describen en el 2. La mayoría de las especies controladas en el estudio se emplean como fungicidas, o son productos de degradación conocidos de los mismos, y una pequeña parte corresponde a insecticidas. Adicionalmente a estos compuestos, a mediados del estudio se incorporó el anti-botrítico fenpyrazamine a la lista de fungicidas en base a sospechas de su utilización frecuente. Las metodologías analíticas empleadas contemplan el uso de compuestos marcados isotópicamente (deuterio y/o ^{13}C) como subrogados internos, además del control de blancos y recuperaciones para muestras con adición.

Las muestras de vinos se han analizado directamente, sin ninguna etapa de filtración, empleando la extracción en fase sólida (SPE) como técnica de extracción (Castro et al., 2018). Adicionalmente a las 220 muestras de vino consideradas en el proyecto (127 analizadas en la anualidad de 2022, y el resto en el 2023), a petición del EVEGA, se ha procesado un número limitado de muestras de mostos, antes y después de su filtración, sustituyendo en este caso la SPE por QuEChERS como técnica de preparación. Los resultados correspondientes a residuos en vino se han expresado en ng/mL, lo que a efectos prácticos equivale a ng/g.

Los valores numéricos correspondientes a las concentraciones individuales de fungicidas e insecticidas encontrados en las muestras de vino procesadas se recogen en el Anexo IX. En ese anexo se resumen los valores de EFs para compuestos quirales encontrados a niveles superiores a 10 ng/mL en estas muestras. Uno de los compuestos (fenpyrazamine, empleado como fungicida en el control de botrytis) se determinó solamente en una parte de las muestras de vinos recibidas en la anualidad del 2023. El límite de cuantificación de este compuesto (no incluido en el acuerdo inicial con el AGACAL fue de 1 ng/mL).

Clasificación de compuestos

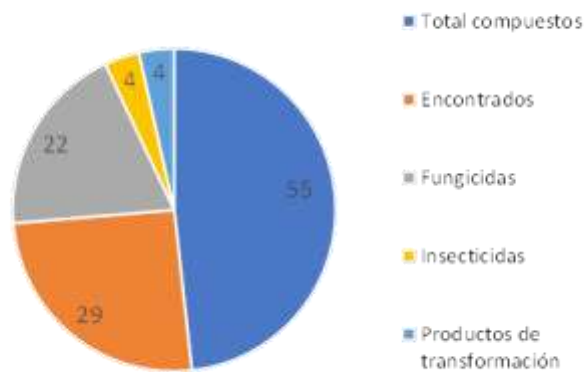


Figura 31. Distribución de fitosanitarios cuantificados en los vinos de la DO Ribeiro.

Del total de 55 compuestos cubiertos por el procedimiento de análisis se encontraron residuos de 29 especies diferentes, la mayoría de las cuales se emplean como fungicidas (22) o son productos de transformación de fungicidas (4 compuestos), Figura 31. La frecuencia de detección de algunos de estos compuestos ha sido muy baja, con solo 14 compuestos detectados en más del 20% de las muestras de vinos, Figura 32. En resumen, la variabilidad en el rango de compuestos empleados en la DO Ribeiro fue relativamente baja.

Número de compuestos según frecuencia de detección

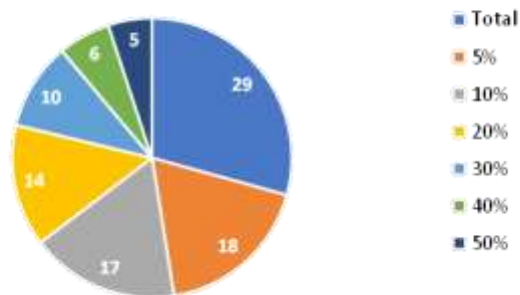


Figura 32. Número de compuestos identificados en vinos por rangos de frecuencia

En la Figura 33 se presentan las frecuencias de detección desglosadas por pesticida. Dentro de los compuestos con prevalencias próximas, o superiores, al 40% se incluyen especies para tratamiento de mildium. Por orden decreciente de frecuencia de detección: metalaxyl, dimethomorph, iprovalicarb y mandipropamide. En todos los casos son fungicidas sistémicos, con valores de PFs relativamente elevados, y una buena persistencia en las cepas, tanto más si consideramos que sus aplicaciones recomendadas se llevan a cabo antes del cuajado del racimo. Dentro del grupo de fungicidas para tratamiento de oidio, además de otras afecciones, destacan por frecuencia de detección el miclobutanil y el tebuconazol, ambos compuestos de naturaleza azólica, sistémicos pero con valores de PFs relativamente bajos. Otros compuestos

de la misma familia, tales como penconazole, tetraconazol y difenoconazol presentaron frecuencias más bajas, o no fueron detectados en los vinos procesados. En la línea de antibotríticos, fenpyrazamine y cyprodinil presentaron prevalencias superiores a fludioxonil y fenhexamide.

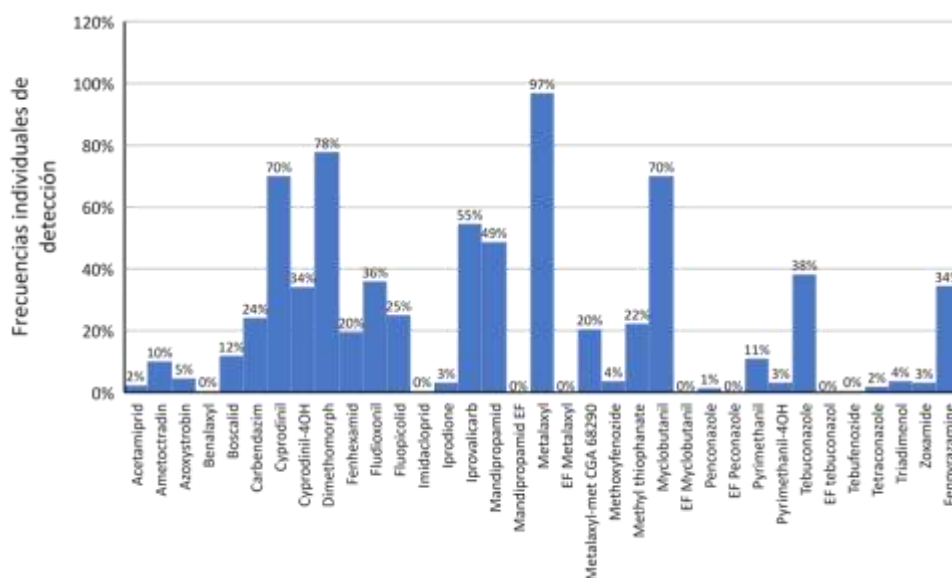


Figura 33. Frecuencias de detección individuales de fungicidas e insecticidas en vinos de la DOP Ribeiro.

Los niveles de concentración promedio y los valores máximos de los compuestos anteriores, considerando muestras de vinos con residuos superiores a los LOQs del procedimiento de análisis, se recogen en la Figura 34. En general, los valores máximos de concentración individuales se mantuvieron por debajo de 200 ng/mL. En algunos casos (ej. metalaxyl, dimetomorph), las frecuencias de detección elevadas se corresponden con valores medios y máximos de residuos también altos. No obstante, no siempre se encuentran estas correlaciones directas. Compuestos como pyrimethanil y su derivado hidroxilado (Pyrimethanil-4OH) combinan frecuencias de detección bajas con valores máximos elevados. La razón más probable es, que el pyrimethanil presenta un PF elevado, sin embargo, su aplicación ha caído en desuso. Otro compuesto que merece atención es el carbendazim. Como tal fungicida, su uso ha sido prohibido. Sin embargo, hasta periodos más recientes se ha autorizado el uso de methyl thiophanate. Este último es un compuesto inestable, que se transforma rápidamente en carbendazim.

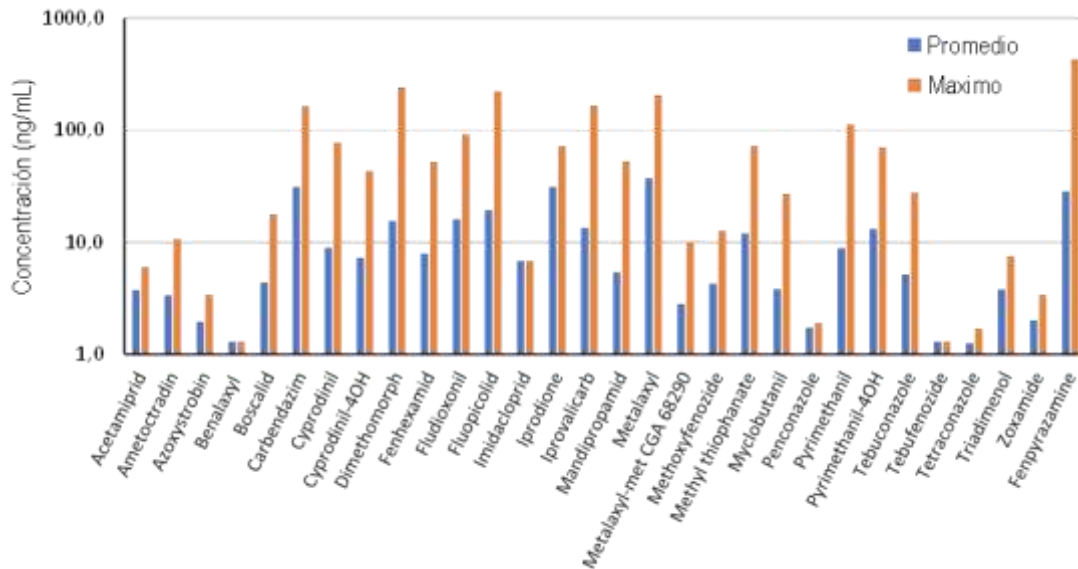


Figura 34. Valores medios y máximos de residuos en vinos calculados teniendo en cuenta las especies cuantificadas.

La comparativa de los valores anteriores (niveles máximos de residuos) con las concentraciones reguladas en uva se presenta en la Figura 35. En casos concretos (metalaxyl y fenpyrazamine), los valores máximos encontrados en los vinos si han superado el 10% de los MRLs fijados para uva. No obstante, tal y como se ha comentado previamente, se trata de una recomendación, sin repercusiones legales a fecha actual. Más relevante resulta la detección de residuos de ciertos compuestos en los vinos después de que ha expirado su autorización de uso. En el caso concreto de iprodione, thiophanate methyl y myclobutanil, las autorizaciones de uso han expirado en diciembre de 2017, octubre de 2020, y mayo de 2021. La Figura 36 muestra un número reducido de vinos positivos para los tres compuestos después de estas fechas, aunque los niveles de residuos medidos solo superaron el umbral de 10 ng/mL en el caso de la **iprodione**. La presencia de estos compuestos en vinos de campañas posteriores a su prohibición podría deberse a la existencia de un pequeño stock de estos fungicidas, adquiridos previamente antes de la fecha límite de prohibición de uso. Los niveles encontrados no parecen preocupantes, a excepción de la **iprodione**.

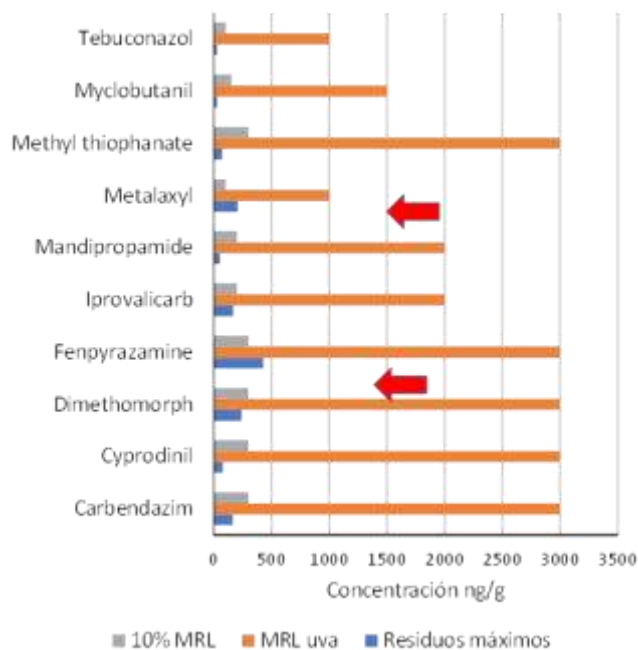


Figure 35. Comparación de valores máximos de residuos en vino con MRLs en uva.

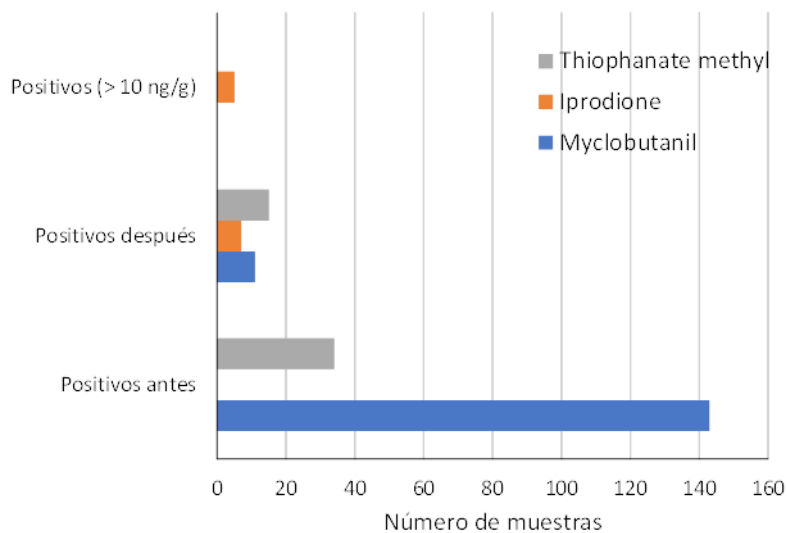


Figure 36. Vinos positivos en myclobutanil, iprodione y thiophanate methyl elaborados posteriormente a la expiración de uso.

La distribución de residuos totales (suma de concentraciones) por tipo de vino y por año de elaboración se presenta en las Figuras 37 y 38, respectivamente. Los gráficos de cajas y bigotes no muestran diferencias significativas entre ambos tipos de vinos (Figura 37), mientras que la

distribución por anualidades refleja una reducción en los valores de la media (definida con el símbolo “x”) y la mediana (línea central de la caja) para los residuos totales de pesticidas en los vinos elaborados en el año 2022 frente a los correspondientes a las campañas de 2019 a 2021 (Figura 34). Esta reducción podría asociarse a unas condiciones climáticas muy favorables durante primavera y verano de 2022, con escasos episodios de precipitaciones, lo que permitió reducir las aplicaciones realizadas durante esta campaña. En todo caso, esta hipótesis debería confirmarse mediante el análisis de un número similar de muestras de vinos en las cuatro campañas. En el estudio realizado en número de vinos de la cosecha del año 2022 fue inferior al considerado en las tres campañas anteriores.

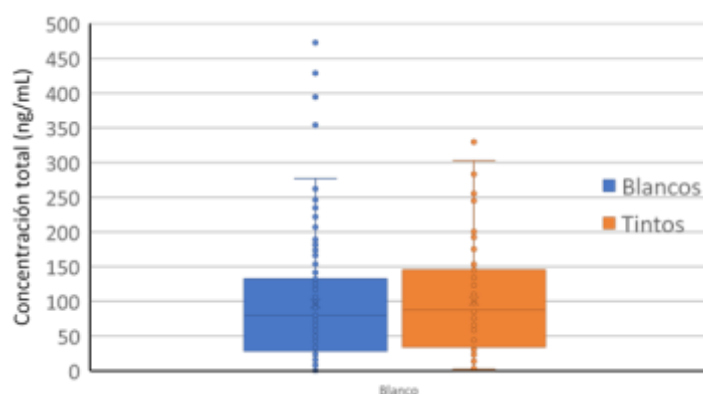


Figura 37. Gráfico de cajas y bigotes para los residuos totales de pesticidas en vinos blancos y tintos.

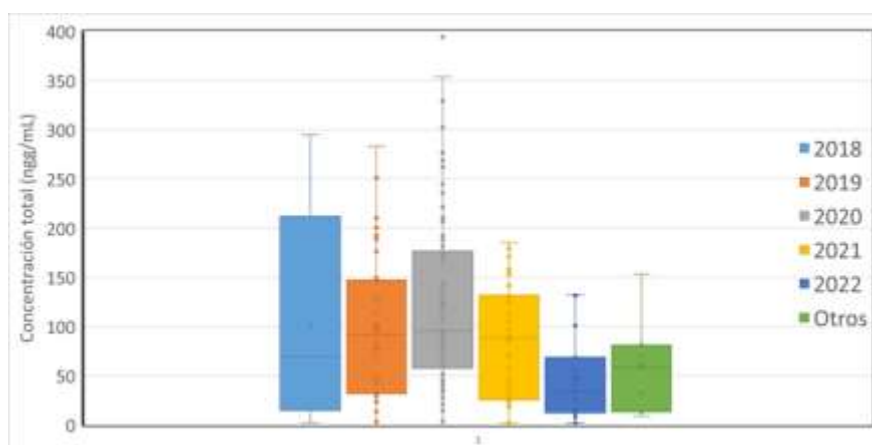


Figura 38. Residuos totales de pesticidas por anualidad.

Los valores de EFs de compuestos quirales, para los compuestos azólicos (myclobutanil, tebuconazol, tetraconazole, penconazole) y la mandipropamide (no incluido en el acuerdo previo entre el EVEGA-AGACAL y la USC), se mantuvieron entorno a 0.50, Anexo IX. Considerando que: (1) los compuestos se comercializan como mezclas racémicas y, (2) que el número de vinos con niveles de concentración total de cada compuesto por encima de 10 ng/mL fue limitado, no se

puede concluir que existan procesos de disipación (en campo) o de transferencia (durante el proceso de vinificación) enantioselectivos, esto es que favorezcan la estabilidad y/o el paso de uno de los enantiómeros al vino frente al otro.

El estudio de las fracciones enantioméricas de metalaxyl resultó más interesante. El porcentaje de Metalaxyl-M (el único enantiómero de metalaxyl activo contra *mildium*) en los vinos procesados, conteniendo más de 10 ng/mL de metalaxyl total, se muestra en la Figura 39. Para vinos elaborados con uva tratada solo con metalaxyl-M, el *ratio* de este compuesto debería mantenerse en la unidad, para vinos procedentes de uva tratada con el racémico (metalaxyl) el cociente sería 0.5. Finalmente, en el caso de uva tratada con ambas formas, en el vino debería de predominar el metalaxy-M (EFs entre 0.5 y 1). Los datos representados en la Figura 39 indican que un número significativo de muestras tienen ratios inferiores a 0.5, esto es contienen más metalaxyl en la forma no activa que en la forma activa. Una posible explicación para estos valores es una mayor persistencia, y/o transferencia, de la forma no activa en el sistema uva-vino que de la forma activa (metalaxyl-M). En ensayos de laboratorio, usando suelos con adicción del producto racémico (ratio de metalaxy-M 0.5) se ha comprobado una disipación diferencial de ambos enantiómeros (Pérez-Mayán et al., 2021. Supercritical fluid chromatography-mass spectrometric determination of chiral fungicides in viticulture-related samples. *Journal of Chromatography A*, 1644. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2021.462124>). Adicionalmente, los responsables del estudio tienen constancia de que no hay interconversión de metalaxy-M a la forma no activa durante la vinificación (en vinos elaborados con uva tratada solamente con metalaxyl-M no hay trazas del enantiómero no activo). Teniendo en cuenta estas evidencias, parece razonable que el uso de formulaciones comerciales a base de Metalaxyl-M, en lugar del racémico, conseguiría reducir significativamente los residuos totales de metalaxyl en vinos, sin afectar a la eficacia del control de mildium en campo. Evidentemente, las analíticas de residuos en uva y vino, realizadas por laboratorios de control hasta el momento, solo controlan el metalaxyl total, puesto que no recurren a separaciones cromatográficas con columnas quirales. Muy probablemente, en un plazo de 2-3 años, será obligatorio la cuantificación por separado de Metalaxyl-M y metalaxyl total.

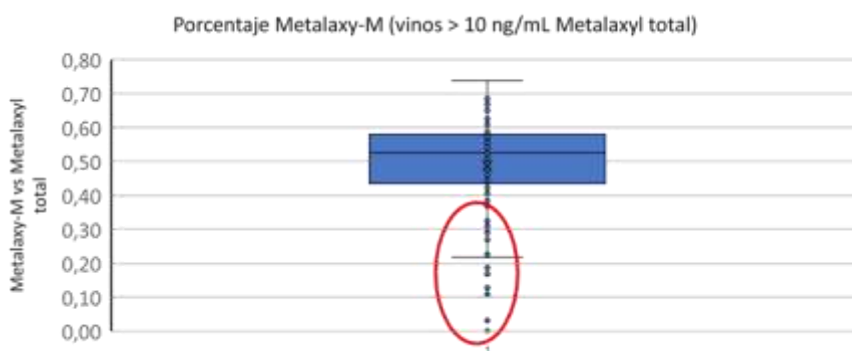


Figura 39. Ratio Metalaxyl-M versus metalaxyl total en vinos.

Análise do contido de aminos bióxenas nos viños

As **aminas bióxenas** son compostos nitroxenados orixinados por descarboxilación dos aminoácidos presentes no mosto ou no viño. Poden proceder da uva ou debido a acción das bacterias lácticas ou dalgúns lévedos. No viño atopamos: **putrescina, histamina, tiramina, cadaverina, e feniletilamina**, entre outras. Son compostos tóxicos que poden causar dor de cabeza, palpitacións, tensión, etc. en individuos susceptibles. Os efectos intensifícanse coa presenza de alcohol e SO₂.

Non hai límite legal para contido de aminos no viño. Na UE algúns países teñen recomendacións para a Histamina (2-10 mg/L). A OIV (2011) no código de boas prácticas na viticultura inclúe recomendacións para minimizar a presenza de aminos bióxenas nos viños.

Na táboa 3 inclúese a media do contido de distintas aminos en total e nos viños brancos e tintos do Ribeiro. Os datos relativos a cada viño están incluídos no Anexo VIII.

Táboa 3. Contido medio de aminos bióxenas nos viños do Ribeiro.

Amina bióxena (mg/L)	Todos	Brancos	Tintos
Histamina	1,13	0,60	2,64
Tiramina	1,48	1,18	2,33
Feniletilamina	0,07	0,04	0,16
Putrescina	4,98	3,96	7,88
Cadaverina	0,03	0,03	0,02
Total	7,69	5,82	13,03

Como se esperaba o contido total de aminos era maior nos viños tintos que nos brancos, aínda que os valores medios, por debaixo de 30mg/L e 10 mg/L, respectivamente na maioría dos viños eran aceptables. A putrescina foi a amina en maior concentración en ambos tipos de viño, seguida da tiramina nos brancos e da histamina nos tintos.

Nos viños brancos o 86% das mostras contiñan <10mg/L de aminos bióxenas (Figura 40). Sen embargo, 6 viños superaban os 30 mg/L. No caso dos viños tintos en algo menos da metade estaban as aminos por debaixo de 10 mg/mL; un 30% entre 10-20 mg/mL, un 11% superaba os 30 mg/mL, pero ningún deles os 40 como pasou nalgún viño branco (Figura 41).

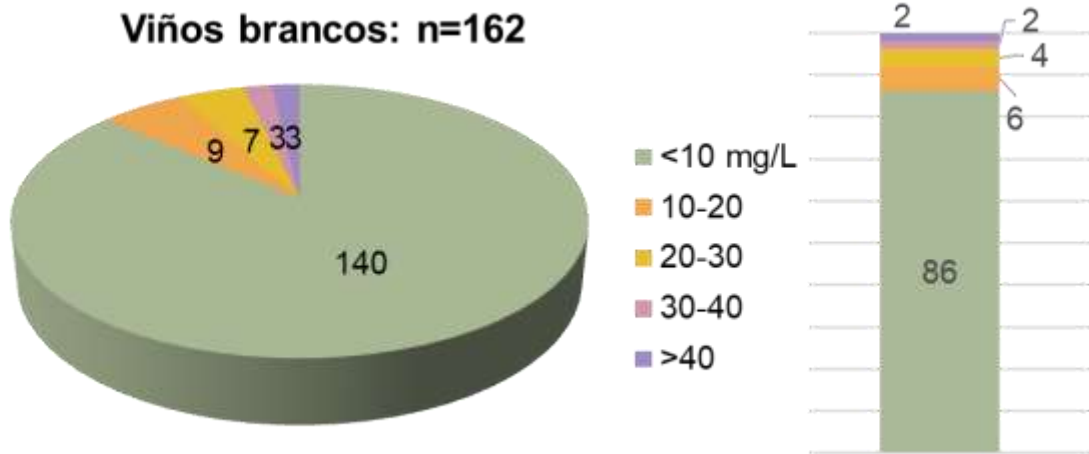


Figura 40. Contido de aminos bióxenas nos viños brancos do Ribeiro.

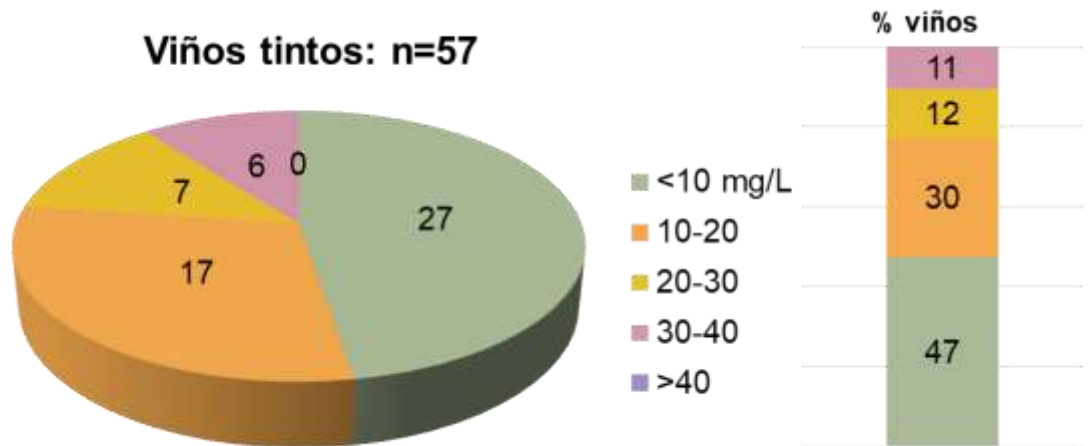


Figura 41. Contido de aminos bióxenas nos viños tintos do Ribeiro.

La “huella dactilar” de los vinos de la DOP Ribeiro: Una innovadora herramienta para la protección de la marca

Durante o desenvolvemento do proxecto xurdiu a oportunidade, en colaboración coa **Estación Enolóxica de Haro**, de utilizar as mostras de viños para obter a pegada dactilar dos viños do Ribeiro. Para iso os viños foron analizados mediante resonancia magnética nuclear e construíuse un modelo para esta DOP que pode ser utilizado para autocontrol e tamén para detección de fraudes (Figura 41).

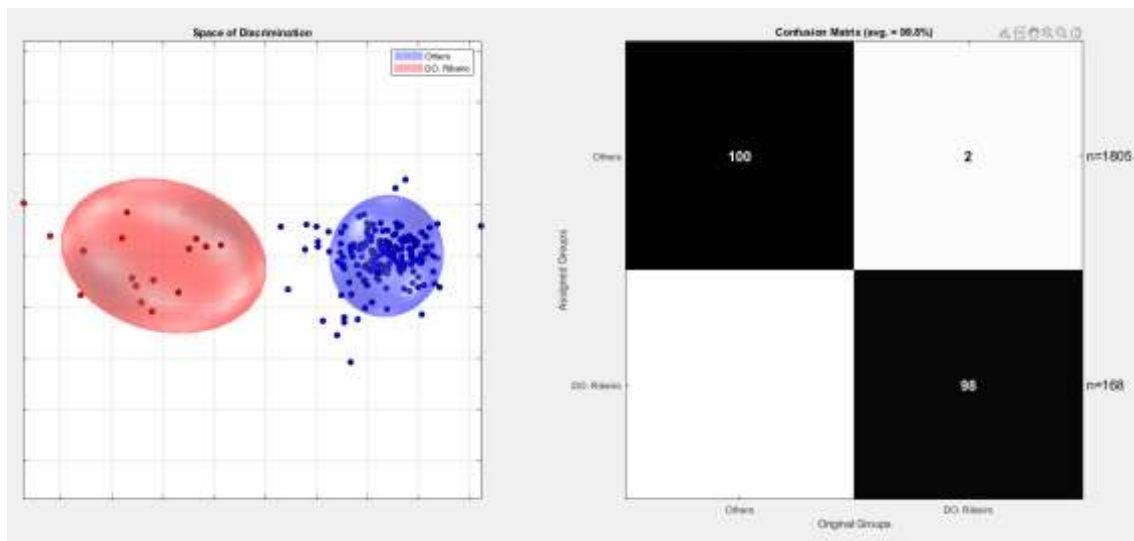


Figura 41. Modelo para os viños da DOP Ribeiro

Este modelo baseouse en 1973 mostras, das cales 168 pertencían á DOP Ribeiro. A sensibilidade do modelo é do 98,0, polo que o error de clasificación bastante baixo.

ACTIVIDADES DE TRANSFERENCIA E DIVULGACIÓN DOS RESULTADOS

- Para transmitir os **resultados** ao sector interesado celebrouse unha **Xornada técnica de transferencia** o día 25 de outubro na sede do CR da DOP Ribeiro, en Ribadavia.

O programa indícase a continuación:



PROGRAMA

- » De 9:30 a 10:00
- » Recepción participantes e presentación da xornada
- » De 10:00 a 11:30
- » **Avaliación dos solos de viñedos baixo distintos manexos**
 - » Propiedades fisicoquímicas dos solos de viñedos baixo diferente manexo (Flora Alonso Vega, Profesora da UVIGO)
 - » Residuos de pesticidas nos solos (Isaac Rodríguez Pereiro, Profesor da USC)
 - » Microbioma nos solos de viñado da DOP do Ribeiro: influencia do manexo e da zona no *terroir* microbiano (Pilar Blanco Camba, Investigadora da Agacal)
- » De 11:30 a 12:00
- » Descanso /café
- » De 12:00 a 13:30
- » **Avaliación dos viños da DOP Ribeiro**
 - » Composición química básica e control microbiolóxico (Pilar Blanco Camba, Investigadora da Agacal)
 - » Presenza de fungicidas nos viños (Isaac Rodríguez Pereiro, Profesor da USC)
 - » Caracterización aromática dos viños (Mar Vilanova, Investigadora do CSIC no Instituto de Ciencias da Vide e do Viño – ICVV (A Ríoxa)
 - » A "pegada dactilar" dos viños DOP Ribeiro. Unha ferramenta innovadora para a protección da marca – (Eva López Rituerto, Responsable do Laboratorio de RMN da Estación Enolóxica de Haro)
- » 13:30
- » Conclusións e clausura

Á xornada asistiron unhas 80 persoas incluíndo viticultores, adegas, estudantes, investigadores e representantes de empresas. Os relatores presentaron os resultados sobre os cales se abriu un debate coa participación de todos os presentes na sala.

- Ademais os resultados presentáronse en **congresos e/ou reunións** e estase traballando na súa publicación de revistas de divulgación e científicas para a súa divulgación a nivel nacional e internacional:
 - Pilar Blanco, Isaac Rodríguez, Victoria Fernández-Fernández, María Ramil, Noemi Calvo-Portela, Andrea Parente-Sendín, Melissa Méndez-López, Flora Alonso-Vega. **Evaluación de suelos de viñedos bajo distinto tipo de manejo en la DOP Ribeiro**. Comunicación oral na 35ª REUNIÓN ANUAL DEL GRUPO DE TRABAJO DE EXPERIMENTACIÓN EN VITICULTURA Y ENOLOGÍA. 10, 11 de mayo de 2023 - Olite (Navarra).

- Pilar Blanco-Camba, Noemi Calvo-Portela, Melissa Méndez-López, Andrea Parente-Sendín, Victoria Fernández-Fernández, María Ramil-Criado, Isaac Rodríguez-Pereiro e Flora Alonso-Vega. Influencia del sistema de manejo en diferentes propiedades fisicoquímicas de suelos de viñedo de la D.O. Ribeiro”. Resumen presentado en el II Congreso Nacional das Ciéncias do Solo 2023. Bragança (Portugal) 28 a 30 de xuño de 2023.
- Pilar Blanco, Mar Vilanova, Elvira Soto, Bianca S. Costa, Eva López Rituerto, Victoria Fernández-Fernández, Isaac Rodríguez. Chemical and microbiological evaluation of Ribeiro wines (NW Spain). II International Congress on Grapevine and Wine Science. 8-10 de noviembre., Logroño (Spain). Aceptado
- P. Blanco, V. Fernández, M. Ramil, I. Rodríguez. Survey of pesticide residues in vineyard soils from the Denomination of Origin Ribeiro. II International Congress on Grapevine and Wine Science. 8-10 de noviembre., Logroño (Spain). Aceptado

➤ Publicacións de divulgación e/ou en revistas científicas:

- Pilar Blanco, Isaac Rodríguez, Victoria Fernández-Fernández, María Ramil, Rosa Montes, Noemi Calvo-Portela, Andrea Parente-Sendín, Melissa Méndez-López, Flora Alonso-Vega. 2023. Microbioma, fertilidad y residuos en suelos de viñedos de la DOP Ribeiro bajo distinto manejo Sevi N° 3647, 8 pax. *En prensa*
- Blanco et al. Physicochemical properties and microbioma of vineyard soils from DOP Ribeiro (NW Spain) as influenced by agricultural management. *Microbiome. En preparación*
- Blanco et al. Chemical and microbiological control of Ribeiro wines. *En preparación*

CONCLUSIÓNS E RECOMENDACIÓNS DERIVADAS DO PROXECTO

Propiedades fisicoquímicas dos solos

- ✓ Os resultados mais relevantes indican que os solos baixo manexo en ecolóxico presentan unhas mellores condicións para a vide que os traballados en convencional. Atopouse tamén unha importante variabilidade entre os resultados correspondentes ás mostras procedentes de solos de viñedos que se atopan en transición ó ecolóxico polo que a avaliación dos mesmos unha vez estean en ecolóxico permitirá comprobar as tendencias observadas.
- ✓ Os resultados tamén indican que a época na que se realizaron as diferentes mostraxes non resultou ser un factor diferenciador para a maioría das propiedades dos solos avaliadas aínda que estas si se ven influenciadas pola profundidade á que se atopan no perfil do solo.
- ✓ Tendo isto en conta, comparáronse os resultados obtidos en función do manexo do cultivo aplicado nos viñedos e aquelas variables indicativas de contidos totais como son o carbono, o nitróxeno e a relación entre os mesmos (C/N) así como os contidos totais de micronutrientes coma o Fe, o Mn ou o Cu non presentan diferencias estatísticas entre os solos baixo diferente manexo.
- ✓ Si foron diferentes, sen embargo, os resultados referidos ás propiedades mais estreitamente vinculadas coa fertilidade do solos, atopando valores mais favorables para a vide como un maior pH ou maiores contidos dos catións intercambiáveis Ca, Mg e K así como os de contidos dispoñibles de micronutrientes (Mn e Zn) nos solos baixo manexo ecolóxico. Estes resultados son todos estatisticamente diferentes ós atopados nos solos baixo manexo convencional e, na maioría dos casos, os valores relativos ás parcelas en transición presentan unha maior variabilidade que non permitiu establecer estas diferencias.
- ✓ En todos os tipos de manexo atopáronse valores altos, tanto do contido total de Cu como do asimilable ou dispoñible, cunha maior proporción deste elemento asociado á relativamente lábil fracción vencellada coa materia orgánica do solo, o que condiciona posibles manexos que poderían dar lugar a que se desencadeen condicións que poden favorecer a aparición de signos de toxicidade debidos ó Cu.
- ✓ Finalmente, indicar que é esperable que a medida que aumente o tempo de duración do manexo en ecolóxico e se establezan estas condicións naqueles viñedos onde se está en transición, poderíase avaliar ou comprobar se as diferenzas observadas se afianzan en todos eles.

Pesticidas en los suelos

- ✓ Los datos de residuos en suelos muestran un patrón de compuestos diferente al existente en los vinos. Por tanto, los parámetros que controlan la distribución de pesticidas entre ambas matrices son diferentes.
- ✓ Dimethomorph, myclobutanil y tebuconazole se encuentran entre los compuestos detectados a niveles más altos en los suelos y entre los más persistentes. La pérdida de autorización de los fungicidas azólicos (2021 para myclobutanil, agosto de 2023 para tebuconazol) podría conllevar un incremento del uso de otras especies de la misma familia, tales como difenoconazol y tetraconazol, por lo que se recomienda su monitorización.
- ✓ Un estudio riguroso del comportamiento de los residuos en suelo requiere periodos de muestreo más largos, considerando la posibilidad de incluir no solo fungicidas e insecticidas, sino también herbicidas de amplio uso (ej. Diflufenican) que puedan implementarse en los mismos métodos multiresiduo aplicados a fungicidas. De esta forma es posible mantener el coste de las analíticas.

Análisis de microbioma do solo

- ✓ Observouse unha tendencia a una maior biodiversidade na poboación tanto de procariotas (bacterias e arqueas) como de fungos nas fincas de manexo ecolóxico, aunque estas diferencias non eran estadísticamente significativas
- ✓ A **comunidade microbiana** do solo é **diferente segundo o manexo**. O manexo ecolóxico presentou máis especies exclusivas
- ✓ Hai evidencia dun **terroir microbiano** asociado as distintas subzonas da DOP Ribeiro
- ✓ O **manexo sustentable** do viñedo favorece a presenza de **redes microbianas máis compactas**, polo tanto, máis resistentes a condicións de estrés
- ✓ Algúns índices de calidade do solo baixo manexo sustentable son máis favorables

Caracterización química de los vinos

- ✓ Los parámetros básicos de los vinos analizados estaban dentro de los establecidos en el pliego de condiciones de la DOP Ribeiro, excepto alguna excepción
- ✓ En cuanto a los aromas, los vinos blancos del Ribeiro mostraron una mayor concentración total de compuestos volátiles en las cosechas 2017-2018, caracterizadas por la mayor parte de las familias de compuestos volátiles respecto a las cosechas 2020-2021. En el caso de los vinos tintos las mayores concentraciones se encontraron en las cosechas 2018 y 2020. La cosecha 2018 mostró una mayor concentración de terpenos y C13-norisoprenoides tanto en vinos blancos como tintos del Ribeiro.

- ✓ A nivel de valles, los vinos blancos y tintos del valle Arnoia mostraron mayores concentraciones de compuestos volátiles responsables del aroma, caracterizados por la mayor parte de las familias de compuestos. Los vinos blancos del Valle de Avia mostraron una mayor concentración de terpenos y C13-norisoprenoides.

Calidad microbiológica de los vinos

- ✓ La calidad microbiológica de los vinos de la DOP Ribeiro es buena. Aunque aprox. en un 50% de los vinos se apreció la presencia de microorganismos, la concentración encontrada solo estaba por encima del umbral considerado preocupante en un 5% d ellos vinos analizados

Calidade sanitaria dos viños:

Pesticidas nos viños

- ✓ Los niveles de pesticidas en vinos de la DO Ribeiro no son alarmantes, aunque se han detectado algunos compuestos en vinos de campañas posteriores a que su uso haya sido prohibido.
- ✓ El residuo mayoritario en los vinos es el metalaxyl. En base a los datos de relaciones enantioméricas del compuesto, se estima que existe un margen para reducir los contenidos de este pesticida en vinos usando formulaciones basadas en metalaxyl-M, en lugar de metalaxyl.
- ✓ Al objeto de entender la variabilidad interanual de residuos se recomienda continuar el estudio, incrementando el número de vinos correspondientes a la campaña del 2022, e incluir también vinos elaborados en el año 2023. Los años 2022 y 2023 son, con una probabilidad muy alta, referencia de un nivel de presión muy bajo (año 2022) y muy elevado (2023) de enfermedades fúngicas en la DOP Ribeiro.

Presencia de aminas biógenas nos viños

- ✓ O contido total de aminas era maior nos viños tintos que nos brancos, aínda que os valores medios na maioría dos viños, por debaixo de 30mg/L e 10 mg/L respectivamente, eran aceptables. A putrescina foi a amina en maior concentración en ambos tipos de viño, seguida da tiramina nos brancos e da histamina nos tintos.

BIBLIOGRAFÍA

- Belda, I., Zarraonaindia, I., Perisin, M., Palacios, A., Acedo, A. 2017. From vineyard soil to wine fermentation: microbiome approximations to explain the *terroir* concept. *Frontiers in Microbiology*. Vol 8. Article 821.
- Bokulich, NA., Collins, TS., Masarweh, C., Allen, G., Heymann, H., Ebeler, S., Mills, A. 2016. Association among wine grape microbiome, metabolome, and fermentation behaviour suggest microbial contribution to regional wine characteristics. *mBIO*. 7 (3). e00631-16.
- Carpinteiro, I., Abuín, B., Rodríguez, I., Ramil, M., Cela, R. 2012. Mixed-mode solid-phase extraction followed by dispersive liquid-liquid microextraction for the sensitive determination of ethylphenols in red wines, *J. Chromatogr. A*, 1229 79-85.
- Castro, G., Pérez-Mayán, L., Rodríguez-Cabo, T., Rodríguez, I., Ramil, M., & Cela, R. (2018). Multianalyte, high-throughput liquid chromatography tandem mass spectrometry method for the sensitive determination of fungicides and insecticides in wine. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 410(3), 1139–1150. <https://doi.org/10.1007/s00216-017-0724-9>
- Coelho E., Lemos M., Genisheva Z., Domingues L., Vilanova M., Oliveira J.M. (2020). Simple and quick LLME/GC-MS methodology to quantify minor volatile compounds in alcoholic beverages. *Molecules* 2020, 25, 621
- CRAEGA 2018. Estadísticas. Memoria anual de actividades do Consello Regulador da Agricultura Ecolóxica de Galicia.
- Esteve-Zarzoso, E., Belloch, C., Uruburu, F., Qquerol, A. 1999. Identification of yeasts by RFLP analysis of the 5.8S rRNA gene and the two ribosomal internal transcribed spacers. *Int J Syst Bacteriol*. 49: 329-337.
- Fernández Calviño, D. 2008. Presencia, distribución y dinámica de Cu en suelos de Viñedo. Tesis Doctoral. Facultad de Ciencias de Ourense. Universidad de Vigo.
- Fernández-Calviño, D., Arias-Estévez, M., Díaz-Raviña, M., Bååth, E. 2012. Assessing the effects of Cu and pH on microorganisms in highly acidic vineyard soils. *European Journal of Soil Science*, 63: 571-578
- Fernández-Calviño, D., Martín, A., Arias-Estévez, M., Bååth, E. & Díaz-Raviña, M. 2010a. Microbial community structure of vineyard soils with different pH and copper content. *Applied Soil Ecology*, 46, 276– 282.
- Fernández-Calviño, D., Nóvoa-Muñoz, J.C., Díaz-Raviña, M., Arias-Estévez, M. 2009. Copper accumulation and fractionation in vineyard soils from temperate humid zone (NW Iberian Peninsula). *Geoderma* 153:119-129.

Fernández-Calviño, D., Soler-Rovira, P., Polo, A., Díaz-Raviña, M., Arias-Estévez, M. & Plaza, C. 2010b. Enzyme activities in vineyard soils long-term treated with copper-based fungicides. *Soil Biology & Biochemistry*, 42, 2119– 2127.

Lawless, H.T.; Heymann, H. Sensory evaluation of food. Principle and practices. Massachussets: Kluwer Academic/Plenum Publishers, 1998.

OIV. International Organization of Wine. 2018. Compendium of international methods of wine and must analysis. Vol. 1 y 2. Paris. <http://www.oiv.int>.

Pérez-Mayán, L., Ramil, M., Cela, R., & Rodríguez, I. (2020). Multiresidue procedure to assess the occurrence and dissipation of fungicides and insecticides in vineyard soils from Northwest Spain. *Chemosphere*, 261, 127696. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.127696>

Pérez-Mayán, L., Ramil, M., Cela, R., & Rodríguez, I. (2021). Supercritical fluid chromatography-mass spectrometric determination of chiral fungicides in viticulture-related samples. *Journal of Chromatography A*, 1644. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2021.462124>

Querol, A., Barrio, E., Huerta, T., Ramón, D. 1992. Molecular Monitoring of Wine Fermentations Conducted by Active Dry Yeast Strains. *Appl Environ Microbiol.* 58, 2948-2953.

REGLAMENTO (CE) nº 834/2007 DEL CONSEJO de 28 de junio de 2007 sobre producción y etiquetado de los productos ecológicos y por el que se deroga el Reglamento (CEE) nº 2092/91.

REGLAMENTO (CE) nº 889/2008 DE LA COMISIÓN de 5 de septiembre de 2008 por el que se establecen disposiciones de aplicación del Reglamento (CE) nº 834/2007 del Consejo sobre producción y etiquetado de los productos ecológicos, con respecto a la producción ecológica, su etiquetado y su control.

REGLAMENTO DE EJECUCIÓN (UE) 2016/673 DE LA COMISIÓN de 29 de abril de 2016 que modifica el Reglamento (CE) nº 889/2008.

REGLAMENTO DE EJECUCIÓN (UE) nº 203/2012 DE LA COMISIÓN de 8 de marzo de 2012 que modifica el Reglamento (CE) nº 889/2008, por el que se establecen disposiciones de aplicación del Reglamento (CE) nº 834/2007 del Consejo, en lo que respecta a las disposiciones de aplicación referidas al vino ecológico.

Vilanova M., Genisheva Z., Masa A., Oliveira JM. (2010). Correlation between volatile composition and sensory properties in Spanish Albariño wine. *Microchemical Journal*, 95: 240-246.

Vilanova, M., Fandiño, M., Frutos-Puerto, S., Cancela J. 2019. Assessment fertigation effects on chemical composition of *Vitis vinifera* L cv. Albariño. *Food Chemistry*, 278: 636-643

Willer, H., & Lernoud, J. 2020. *The World of Organic Agriculture Statistics and Emerging Trends 2020*. (H. Willer, B. Schlatter, J. Trávníček, L. Kemper, & J. Lernoud, Eds.). Switzerland: FiBL - Research Institute of Organic Agriculture Switzerland, Statistics & Country Info. Retrieved from <https://shop.fibl.org/chde/5011-organic-world-2020.html>